

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR
ZAHNERHALTUNG UND PARODONTOLOGIE
PROF. DR. MED. DENT. WOLFGANG BUCHALLA
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

IN VITRO UNTERSUCHUNGEN AN HUMANEN ZÄHNEN ZUR ERMITTLUNG DER
ANWENDBARKEIT DER PHOTOPLETHYSMOGRAPHIE ZUR DETEKTION DES
BLUTFLUSSES IN DER ZAHNPULPA UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DES
BLUTFLUSSES IN DER GINGIVA

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von

Andreas Jaeger

2014

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR
ZAHNERHALTUNG UND PARODONTOLOGIE
PROF. DR. MED. DENT. WOLFGANG BUCHALLA
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

IN VITRO UNTERSUCHUNGEN AN HUMANEN ZÄHNEN ZUR ERMITTLUNG DER
ANWENDBARKEIT DER PHOTOPLETHYSMOGRAPHIE ZUR DETEKTION DES
BLUTFLUSSES IN DER ZAHNPULPA UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DES
BLUTFLUSSES IN DER GINGIVA

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von

Andreas Jaeger

2014

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Gottfried Schmalz

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Peter Proff

Mündliches Prüfungsdatum: 15.05.2014

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literatur	2
2.1 Anatomie der Zahngewebe	2
2.1.1 Der Zahnschmelz	2
2.1.2 Das Dentin	3
2.1.3 Die Zahnpulpa	4
2.2 Anatomie der Gingiva	6
2.3 Humanes Blut und humanes Erythrozytenkonzentrat	7
2.4 Diagnostische Verfahren zur Vitalitätsprüfung von humanen Zähnen	8
2.4.1 Bestimmung der Zahnsensibilität	8
2.4.2 Bestimmung der Zahndurchblutung	9
2.4.2.1 Laser-Doppler-Blutflussmessung	9
2.4.2.2 Photoplethysmographie	11
2.4.2.3 Laser-Speckle-Bildgebung	13
2.5 Lichtwellenleiter	14
2.5.1 Koppelverluste und optische Dämpfung beim Einsatz von Glas-Lichtwellenleitern	15
2.6 Spektroskopische Eigenschaften von humanem Dentin und Blut	17
3. Fragestellung	19
4. Material und Methoden	20
4.1 Entwicklung der Versuchsanordnung für Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Zahnmodell	20
4.1.1 Entwicklung der Lichtquellenmodule für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell	21
4.1.1.1 Entwicklung und Bau des Lasermoduls für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell	21

4.1.1.2 Entwicklung und Bau des LED-Lichtmoduls für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell	23
4.1.2 Entwicklung des Zahnmodells	25
4.1.3 Entwicklung und Bau einer Klammer zur Fixierung von Lichtleiter und Detektor am Zahnmodell	25
4.1.4 Aufbau des Blutkreislaufs für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell.....	27
4.1.5 Entwicklung der Apparatur zur Signalauswertung der Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell	28
4.1.6 Herstellung der Testmedien für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell.....	29
4.2 Untersuchungsgruppen am Zahnmodell	30
4.3 Entwicklung der Versuchsanordnung für Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Gingivamodell	32
4.3.1 Lichtquelle für die Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell	33
4.3.2 Entwicklung des Gingivamodells	33
4.3.3 Entwicklung und Bau einer Klammer zur Fixierung von Lichtleiter und Detektor am Gingivamodell	35
4.3.4 Aufbau des Blutkreislaufs für Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell.....	36
4.3.5 Entwicklung der Apparatur zur Signalauswertung der Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell	37
4.3.6 Herstellung des Testmediums für Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell... ..	38
4.4 Untersuchungsgruppen am Gingivamodell	38
4.5 Datenverarbeitung.....	39
4.6 Transmissionsmessungen von Dentin am FTIR-Spektrometer	41
4.6.1 Herstellung der Dentinscheiben	41
4.6.2 Herstellung einer individuellen Halterung	42
4.6.3 Transmissionsmessungen von Dentinscheiben	43
4.6.4 Datenverarbeitung	44
5. Ergebnisse	45

5.1 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahnmodell.....	45
5.2 Ergebnisse der Untersuchungen am Gingivamodell	48
5.3 Ergebnisse der Transmissionsmessungen für Dentinscheiben.....	49
6. Diskussion	53
6.1 Diskussion der Methode.....	53
6.1.1 Vitalitätsbestimmung der Zahnpulpa.....	53
6.1.2 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen mit Lichtleitern	53
6.1.3 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 1	55
6.1.4 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 2	56
6.1.5 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Gingivamodell mit der Versuchs-ID 3 und 4	58
6.2 Diskussion der Ergebnisse	59
6.2.1 Diskussion der Ergebnisse der Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Zahnmodell mit der Versuchs- ID 1.....	59
6.2.2 Diskussion der Ergebnisse der Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 2.....	62
6.2.3 Diskussion der Ergebnisse der Photoplethysmographieuntersuchungen <i>in vitro</i> am Gingivamodell mit der Versuchs-ID 3 und 4	63
6.2.4 Diskussion der Ergebnisse der Transmissionsmessungen für Dentinscheiben.....	64
6.3 Ausblick.....	65
7. Zusammenfassung.....	67
8. Anhang.....	68
8.1 Abkürzungsverzeichnis	68
9. Literaturverzeichnis	69

1. Einleitung

"Auf zweierlei kommt es bei jeder Behandlung an: Zu nützen oder wenigstens nicht zu schaden" heißt es in einer berühmten Stelle im ersten Buch der hippokratischen Epidemien (Hippokrates von Kos um 460-370 v. Chr.) [44]. Dieser bis heute gültige Grundsatz ärztlicher Ethik setzt voraus, dass vor jeder Therapie eine korrekte und umfassende Diagnose gestellt wird. Im zahnmedizinischen Alltag ist die Beurteilung der Zahnvitalität oft wichtige Voraussetzung um eine adäquate Therapieentscheidung treffen zu können. Jedoch stehen dem Behandler bisher keine zuverlässigen Methoden zur Verfügung, da Sensibilitätstests die Vitalität nur auf indirektem Wege bestimmen können und auf eine subjektive Bewertung des Patienten angewiesen sind. Dadurch gestaltet sich die Vitalitätsprüfung speziell bei Kindern, kranken oder behinderten Menschen schwierig und kann bei Patienten der Intensivmedizin sogar überhaupt nicht angewendet werden. Besonders kritisch sind die gängigen Methoden bei Patienten nach Zahntraumata zu bewerten, da hier häufig Fehldiagnosen gestellt werden, deren Folgen zur unnötigen Zerstörung erheblicher Zahnhartsubstanzmengen sowie vitalem Pulpagewebe führen können.

Daher sind objektivere Untersuchungsmethoden nötig, die in der Lage sind anstelle der Sensibilität die Durchblutung nachzuweisen und damit eine direkte Bestimmung der Zahnvitalität ermöglichen. In letzter Zeit wurden zahlreiche Möglichkeiten wie die Laser-Doppler-Blutflussmessung [47], die Laser-Speckle-Bildgebung [62], die Infrarot-Thermographie [33] und die Photoplethysmographie [46;49;59] dafür vorgeschlagen. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, einen Beitrag zur Entwicklung eines auf der Technik der Photoplethysmographie basierenden Untersuchungsverfahrens zu leisten, das durch Messung der Zahndurchblutung eine direkte Bestimmung der Zahnvitalität ermöglicht. Dazu wurden an einem humanen Zahnmodell die Anwendbarkeit der Photoplethysmographie bei simulierter elastischer und starrer Pulpa untersucht und Lichtquellen unterschiedlicher Wellenlängen (470 nm-940 nm) eingesetzt, um eine für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahn geeignete Wellenlänge zu ermitteln. Zur weiteren Annäherung an das anatomische Vorbild wurde dann ein Gingivamodell entwickelt. Abschließend wurden spektroskopische Untersuchungen von humanem Dentin im Bereich von 0,8 μm -3,0 μm durchgeführt.

2. Literatur

2.1 Anatomie der Zahngewebe

2.1.1 Der Zahnschmelz

Die äußerste Schicht der humanen Zahnkrone ist der Zahnschmelz (Abb. 1). Mit den Hauptbestandteilen Kalzium und Phosphat, die in Form kleiner Kristalle als Hydroxylapatit, Carbonatapatit und Fluorapatit vorliegen, besteht er zu 95 Gew.-% aus anorganischer Substanz. Die restlichen 5 Gew.-% entfallen auf Wasser (Kristallwasser und freies Wasser) und auf einen organischen Anteil aus Proteinen und Lipiden. Der Schmelz ist härter, abrasionsfester aber auch spröder als die anderen Zahnhartsubstanzen. An den Schneidekanten, Höckerspitzen und Randleisten ist er am dicksten und wird zum Zahnhals hin dünner [43].

Der mittlere obere Schneidezahn hat eine durchschnittliche Schmelzdicke (mesiale + distale Schmelzdicke zusammen) von 1,72 mm, der obere Eckzahn von 2,36 mm [6], die Prämolaren im Unterkiefer zwischen 2,06 mm und 2,41 mm und die Molaren im Unterkiefer zwischen 2,68 mm und 2,77 mm [64]. Die Schmelzmatrix wird während der Amelogenese durch die Ameloblasten gebildet und in der präeruptiven Schmelzreifung durch Einlagerung von Phosphat und Kalzium mineralisiert. Periodisch auftretende Ruhephasen der Ameloblasten während der Schmelzbildung lassen hypomineralisierte Bereiche, die so genannten Retzius Streifen, entstehen. Zahnschmelz ist nicht regenerierbar, da er keine Zellen oder deren Fortsätze einschließt und die Ameloblasten nach Abschluss der Schmelzbildung zugrunde gehen. Im histologischen Schliffpräparat imponieren Schmelzprismen mit einem Durchmesser von etwa 5-6 µm als größte strukturelle Einheit. Sie verlaufen von der Schmelz-Dentin-Grenze bis knapp unter die Schmelzoberfläche und setzen sich jeweils aus etwa 100 Schmelzkristallen zusammen. Die obersten 20-30 µm des Schmelzes sind prismenfrei. Zwischen den Schmelzprismen befindet sich die interprismatische Substanz, bestehend aus Schmelzkristallen mit einer weniger geordneten Struktur. Die größte Menge des organischen Schmelzanteils befindet sich hier [27;43].

Abb. 1:

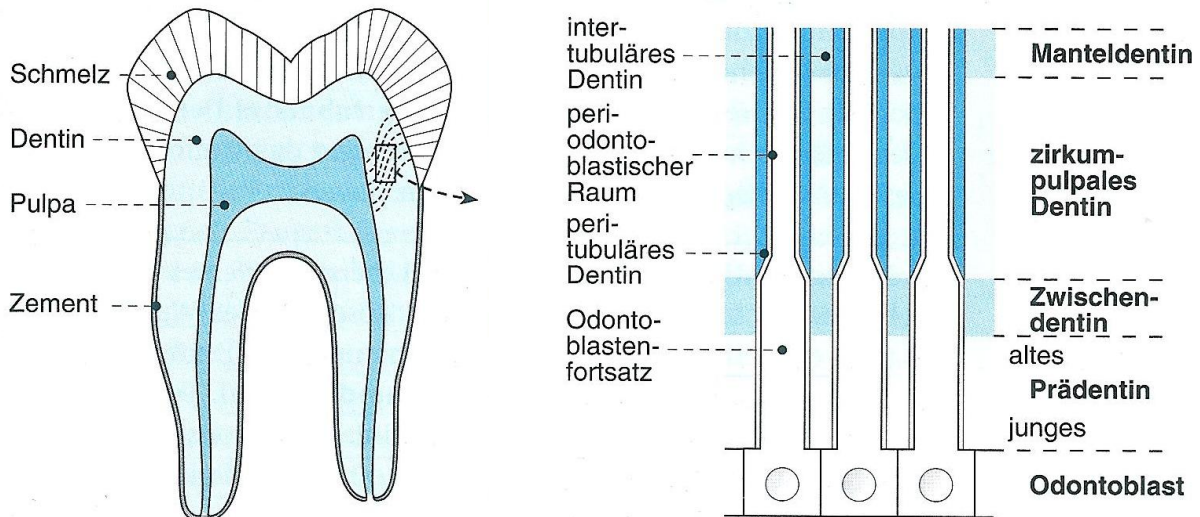


Abb. 1: Schematische Darstellung des humanen Zahnes (Quelle: direkt übernommen [27])

2.1.2 Das Dentin

Dentin (Abb. 1) ist der größte Teil des humanen Zahnes und umgibt die Pulpa. Das koronale Dentin wird von Schmelz und das Wurzel-dentin von Zement bedeckt. Mit 70 Gew.-% anorganischem Material ist das Dentin weniger mineralisiert als der Zahnschmelz, jedoch höher als der Zahnzement (65 Gew.-%). Die restlichen Teile entfallen mit 20 Gew.-% auf organisches Material und mit 10 Gew.-% auf Wasser [24]. Der anorganische Anteil besteht wie beim Schmelz aus den Hauptbestandteilen Kalzium und Phosphat, die als Apatit oder amorphes Kalziumphosphat vorliegen. Der organische Anteil besteht zu über 90 % aus Typ I Kollagen. Das gesamte Dentin wird von Dentinkanälen durchzogen, in denen die Fortsätze der am Rande der Pulpa lokalisierten Odontoblasten verlaufen. Der Durchmesser der Dentinkanäle nimmt von der Dentin-Pulpa-Grenze (2-3 μm) nach außen hin ab (0,5-0,9 μm) [27;65]. Entsprechend reduziert sich auch die Anzahl der Dentinkanäle von 30000-50000 Kanälen/ mm^2 auf 10000-25000 Kanälen/ mm^2 [20]. Strukturell und topografisch lassen sich im Dentin von innen nach außen vier Zonen unterscheiden (Abb. 1). An der Grenze zur Pulpa liegt das noch nicht ausgereifte, hypomineralisierte Prädentin. Ihm liegt direkt die Odontoblastenschicht auf. Darauf folgt das Zwischen-dentin als eine Zone der Mineralisation. Die Hauptmasse des Dentins bildet das zirkumpulpaes Dentin, welches nochmal in intertubuläres und peritubuläres Dentin differenziert werden kann. Intertubuläres Dentin macht mit 80-90 % den größeren Anteil aus, ist gering mineralisiert und von einem Flechtwerk aus Typ I Kollagen durchzogen. Das peritubuläre Dentin kleidet die Dentinkanäle und ihre feinen Verzweigungen aus und weist die stärkste Mineralisation aller Dentinstrukturen auf. Die äußerste Schicht bildet mit etwa 15-30 μm Dicke das Manteldentin. Es ist nur sehr gering mineralisiert und

weist daher eine gewisse Resilienz auf, um die auf den Schmelz einwirkenden Kräfte und Drücke abzuleiten und so der Entstehung von Schmelzrissen entgegen zu wirken. Dentinkanälchen sind hier keine mehr vorhanden [24;27].

2.1.3 Die Zahnpulpa

Die humane Pulpa (Abb. 1) ist der Weichgewebeskern eines Zahnes und wird topografisch in Kronen- und Wurzelpulpa unterteilt. Sie wird von einer starren, unnachgiebigen Wand aus Schmelz, Dentin und Zement umgeben und steht über das Foramen apicale und über mehrere Seitenkanäle mit dem Parodont in Verbindung. In eine gelartige Grundsubstanz aus überwiegend Glykosaminoglykanen und Proteoglykanen sind Blutgefäße, Nervenfasern, kollagene und retikuläre Fasern, Fibrozyten, Odontoblasten sowie Ersatz- und Abwehrzellen eingelagert. Vor allem in der Kronenpulpa lassen sich verschiedene Gewebezonen voneinander unterscheiden. Zentral befindet sich eine Zone, in der die größeren Blutgefäße und Nervenbündel verlaufen. Darauf folgt nach außen hin die zellreiche Zone mit zahlreichen Fibroblasten und dem Raschkow'schen-Plexus, die zellfreie Zone (Weil-Zone) und die dentinbildende Zone mit dem Odontoblastensaum [7;27;70].

Die Pulpa ist vaskularisiert und bildet auf Grund eines fehlenden Kollateralkreislaufs ein funktionelles Endstromgebiet [66]. Durch das Foramen apicale treten Arteriolen (Durchmesser $< 100 \mu\text{m}$) in den Wurzelkanal ein und Venolen (Durchmesser $< 200 \mu\text{m}$) aus. Die Arteriolen ziehen in nahezu geradlinigem Verlauf in die Kronenpulpa und geben dabei zahlreiche Kapillaren ab, die in der Peripherie den subodontoblastischen Kapillarplexus bilden (Abb. 2). Der Kapillarplexus versorgt die Odontoblasten mit der notwendigen Menge an Nährstoffen und Sauerstoff und sorgt für den Abtransport der Stoffwechselendprodukte. In der Wurzelpulpa finden sich zahlreiche arteriovenöse und venovenöse Anastomosen sowie "U-Turn Loop Arteriolen". Obwohl ihre genaue Funktion noch nicht abschließend geklärt ist, ist es sehr wahrscheinlich, dass sie an der Regulation des pulpalen Blutflusses und am Ausgleich von systemischen Blutdruckschwankungen beteiligt sind [38;70]. Der mittlere arterielle Blutdruck der Pulpa liegt bei 43 mmHg, der mittlere venöse Blutdruck bei 19 mmHg und der mittlere Druck in den feinen Kapillaren bei 35 mmHg [66]. Stenvik et al. [60] führten zur Bestimmung des pulpalen Gewebedrucks Untersuchungen an Schneidezähnen von Affen durch. An freigelegtem Pulpagewebe mehrerer Klasse V Kavitäten ermittelten sie einen mittleren pulpalen Gewebedruck von 16 mmHg und zusätzlich einen schwachen, jedoch deutlich detektierbaren Puls mit 1-2 mmHg, entsprechend der Herzfrequenz der Affen. Zur Bestimmung des Blutflusses in der Pulpa untersuchte Tonder [66] die Eckzähne von 61 Mischlingshunden mit Hilfe der H_2 -Entsättigung und ermittelte dabei eine Flussrate von $0,15\text{-}0,17 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Kim [38] sowie Yu und

Abbott [70] berichten dagegen von Untersuchungen mit radioaktiven Mikrokugeln und einer Blutflussrate von $0,4-0,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Verglichen mit anderen oralen Geweben (Gingiva: $0,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, Speicheldrüse: $0,38 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) und dem Skelettmuskel ($0,05 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) weist die Hundepulpa die höchste Blutflussrate pro Gewichtseinheit auf. Die Kronenpulpa hat dabei einen etwa doppelt so hohen Blutfluss wie die Wurzelpulpa [38]. Bei einem ermittelten Nassgewicht der humanen Pulpa eines dritten Molaren von $13,10 \text{ mg}$ [45] ergibt sich ein Blutfluss von $2,0 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ – $6,6 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$.

Obwohl die Pulpa als lockeres Bindegewebe dem Bindegewebe im restlichen Körper ähnelt, ist das Pulpasystem aufgrund seiner starren und unnachgiebigen Ummantelung durch die Zahnhartsubstanzen einzigartig im Körper. Die Ausdehnungsfähigkeit der Pulpa ist stark eingeschränkt und neben dem vergleichsweise geringen arteriellen Blutdruck ist der venöse Druck und der interstitielle pulpale Gewebedruck verhältnismäßig hoch [66]. Der interstitielle Gewebedruck im restlichen Körper ist leicht negativ bis annähernd null. Der hohe interstitielle pulpale Gewebedruck hat zum einen eine Kompressionswirkung auf die Blutgefäße und zum anderen bewirkt er einen nach außen in die Dentintubuli gerichteten Fluss von Gewebeflüssigkeit, der eine Diffusion von toxischen Substanzen in die Pulpa verhindern soll. Trotz der Kompressionswirkung auf die Blutgefäße sind physiologische und medikamentös induzierte Vasodilatationen möglich [60;70].

Abb. 2:

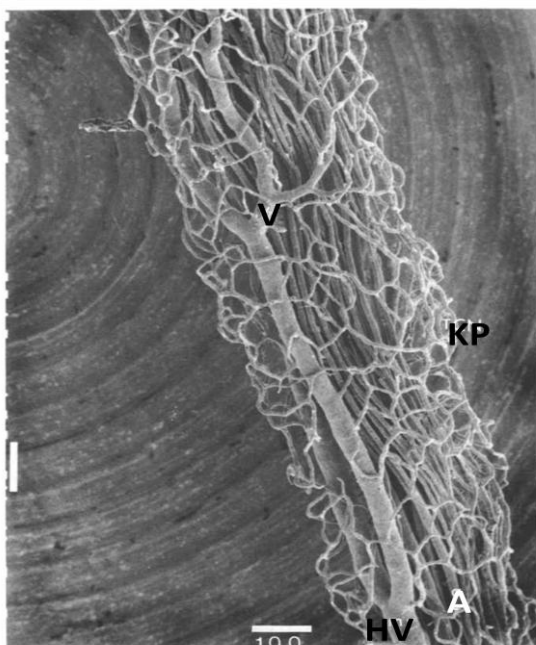


Abb. 2: Gefäßnetzwerk des apikalen Pulpabereichs eines Hundeprämolaren. Es zeigt sich der geradlinige Verlauf der Arteriolen (A) mit dem subodontoblastischen Kapillarplexus (KP). Direkt neben den Arteriolen verlaufen die deutlich dickeren Venolen (V= Venole, HV= Hauptvenole). Der weiße Balken entspricht $100 \mu\text{m}$. (Quelle: direkt übernommen [38], Benennungen wurden modifiziert)

2.2 Anatomie der Gingiva

Die humane Gingiva verläuft girlandenförmig, knapp oberhalb der Schmelz-Zement-Grenze und bildet zusammen mit dem Wurzelzement, dem Desmodont und dem Alveolarfortsatz das Parodont. Sie besteht aus einer epithelialen Schicht und einer subepithelialen Bindegewebsschicht mit Blutgefäßen, Lymphgefäßen und Nerven. Topografisch und strukturell lassen sich 3 Gingivaepithelien unterscheiden: Saumepithel (SE), orales Sulkusepithel (OSE) und orales Gingivaepithel (OGE) [58] (Abb. 3). Das Saumepithel erstreckt sich von der Schmelz-Zement-Grenze bis zum Boden des gingivalen Sulkus, wo es kontinuierlich in das orale Sulkusepithel übergeht. Die Anheftung der Gingiva an der Zahnoberfläche erfolgt über hemidesmosomale Verknüpfung des Saumepithels mit der Zahnoberfläche. Orales Sulkusepithel und orales Gingivaepithel sind mehrschichtig und keratinisiert. Zapfenartige Einstülpungen der Lamina propria in die Epithelschicht erzeugen eine gestippte Oberfläche im Bereich der befestigten Gingiva [27]. Versorgt wird die Gingiva über die A. alveolaris superior posterior und die A. alveolaris inferior. Ihre Gefäßäste gelangen über das Desmodont und interdentale Knochensepten in die Gingiva (Abb. 3). Zusätzlich sorgen periostale Äste der A. lingualis, A. buccalis, A. mentalis und A. palatina für die gute Durchblutung der Gingiva [27;58]. In der Literatur wird von einer Blutflussrate von $0,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ in der Gingiva von Hunden berichtet [38]. Im Bereich des Saumepithels befindet sich ein stark vaskularisierter, subepithelialer Gefäßplexus aus anastomosierenden Venolen der unter anderem der Infektionsabwehr dient [58].

Abb. 3:

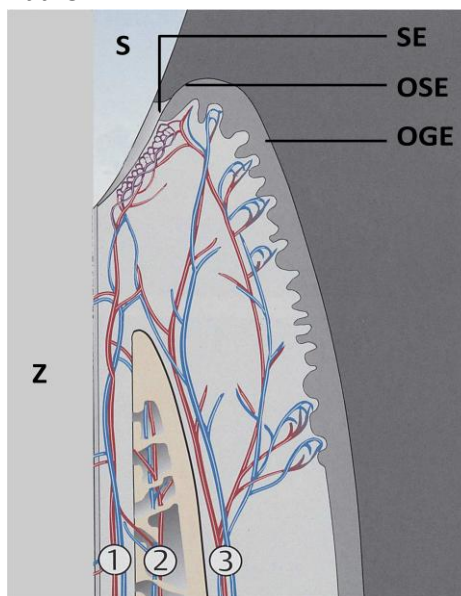


Abb. 3: Aufbau der Gingiva und der parodontalen Blutversorgung (Quelle: Modifiziert [69])
S: Schmelz, Z: Zement, SE: Saumepithel, OSE: Orales Sulkusepithel, OGE: Orales Gingivaepithel, 1: Desmodontale Äste der Hauptarterien, 2: Äste der Hauptarterien durch interdentale Knochensepten, 3: Periostale Äste der Nebenarterien

2.3 Humanes Blut und humanes Erythrozytenkonzentrat

Blut erfüllt eine Vielzahl von Aufgaben, zu denen neben der Transportfunktion für Atemgase (O_2 , CO_2) auch die Abwehrfunktion und Blutstillung gehören. Beim erwachsenen Menschen macht das Blutvolumen 6-8 % (ca. 4-6 l) des Körpergewichts aus. Der zelluläre Teil des Blutes setzt sich aus den Erythrozyten (99 %), Leukozyten und Thrombozyten zusammen. Erythrozyten sind kernlose, scheibenförmige Zellen mit einem Durchmesser von etwa 7,5 μm . Sie werden im Knochenmark aus pluripotenten Stammzellen gebildet und haben eine durchschnittliche Überlebenszeit von 90-120 Tagen. Beim Mann ist die durchschnittliche Erythrozytenzahl mit $4,6-6,0 \cdot 10^{12}$ Erythrozyten/Liter Blut etwas höher als bei der Frau ($4,0-5,5 \cdot 10^{12}$ Erythrozyten/Liter Blut). Entsprechend ist auch die Hämoglobinkonzentration beim Mann (140-175 g/l) höher als bei der Frau (123-153 g/l) [29;41]. Durch die flexible Membran der Erythrozyten haben sie eine gute Verformbarkeit, die ihnen den Durchtritt durch kleinste Kapillaren ermöglicht. Dabei nehmen sie eine hütchen- oder fallschirmähnliche Form an [39]. Das Blutplasma macht 55 % des humanen Blutes aus und ist eine klare, goldgelbe Flüssigkeit, in der Elektrolyte, Nährstoffe, Stoffwechselprodukte und Proteine gelöst sind. Außerdem enthält es die für die Blutstillung wichtigen Gerinnungsfaktoren [29;41].

Für die Herstellung von Erythrozytenkonzentraten, wie sie in der vorliegenden Arbeit verwendet werden sollten, werden sterile Beutelsysteme verwendet. Bei der Blutentnahme werden vom Spender meist 450-500 ml Vollblut in einen Beutel entnommen, in dem sich ein Antikoagulans, meist CPD (Natriumcitrat, Citronensäuremonohydrat, Glucosemonohydrat, Natriumdihydrogenphosphat), befindet. Anschließend erfolgt die Zentrifugation, bei der sich im Beutel drei Schichten ausbilden: Die Erythrozyten, das Blutplasma und der Buffy coat, eine weißliche Schicht, bestehend aus Thrombozyten und Leukozyten. Nach Separation der einzelnen Schichten müssen verbleibende Leukozyten aus der Erythrozytenschicht entfernt werden, ein Vorgang der Leukozytendepletion genannt wird. In Deutschland ist es gesetzlich vorgeschrieben, dass Erythrozytenkonzentrate maximal $1 \cdot 10^6$ Leukozyten pro Beutel enthalten dürfen. Die Entfernung der Leukozyten geschieht mit speziellen Filtern durch Adhäsionsfiltration [11;37]. Die Blutkonserve ist erschütterungsfrei und bei 4 °C (± 2 °C) mit ununterbrochener Kühlkette zu lagern. Je nach Aufbereitungsverfahren und Zusatz von Antikoagulantien und Stabilisatoren kann eine Haltbarkeit von bis zu 7 Wochen gewährleistet werden [42].

2.4 Diagnostische Verfahren zur Vitalitätsprüfung von humanen Zähnen

2.4.1 Bestimmung der Zahnsensibilität

In der zahnmedizinischen Diagnostik ist es häufig notwendig, den Zustand der Zahnpulpa und deren Vitalität zu beurteilen. Gängige diagnostische Verfahren bestimmen die Zahnvitalität über die Sensibilität der pulpalen Nervenfasern auf indirektem Wege, da ein direkter Zugriff auf die Pulpa wegen deren Ummantelung mit den Zahnhartsubstanzen nicht möglich ist. Es werden thermische, elektrische oder mechanische Reize auf das Endodont übertragen, die bei einer vitalen Pulpa eine vom Patienten subjektiv empfundene Schmerz sensation auslösen. Der Patient muss nun in der Lage sein, dem Behandler das Schmerzereignis mitteilen zu können [3]. Bleibt die Schmerz sensation aus, deutet dies im Rückschluss auf einen nekrotischen Zustand der Pulpa oder einen endodontisch versorgten Zahn hin [27].

Durch das Foramen apicale treten die Nervenfasern in die Pulpa ein, verlaufen parallel zu den Blutgefäßen bis in die Kronenpulpa und bilden in der bipolaren Zone den Raschkow' schen Plexus aus [2;27;70]. Die Schmerzübertragung wird durch die myelinisierten A-Fasern, hauptsächlich A- δ -Fasern, und die nicht myelinisierten C-Fasern vermittelt. Während die A-Fasern auf einen äußeren Reiz mit einem scharfen, stechenden und deutlich lokalisierbaren Schmerz reagieren, wird der Schmerz der C-Fasern eher dumpf und ausstrahlend wahrgenommen. Zur klinischen Vitalitätsprüfung wird am häufigsten die Applikation von Kälte herangezogen. Durch die plötzlich auftretende Temperaturänderung entsteht in den Dentintubuli eine Flüssigkeitsbewegung, die entsprechend des hydrodynamischen Effekts eine durch die A-Fasern vermittelte Schmerz sensation auslöst [2;9]. Als besonders effektiv hat sich die Applikation von Kohlendäureschnee (-78 °C) und Dichlorfluormethan (-50 °C) erwiesen. Innerhalb von 5 Sekunden reagieren die meisten Patienten mit intakter Pulpa auf den Kältereiz. Dabei nimmt die Temperatur an der Pulpa-Dentin-Grenze mit CO₂-Schnee um etwa 0,9 °C und bei Dichlorfluormethan um etwa 1,3 °C ab [19]. Auch längere Einwirkzeiten und die damit verbundenen größeren Temperaturabnahmen scheinen keinen schädigenden Einfluss auf das Pulpagewebe [19;53] und den Zahnschmelz [51] zu haben. Gelegentlich finden auch Eisstäbchen (0 °C) oder Ethylchlorid (-5 °C) bei der Vitalitätsprüfung Anwendung.

Neben dem Kälte test wird häufig die Applikation von Wärme in Form erhitzter Guttaperchastangen empfohlen. Dabei sind zwei Effekte zu beobachten. Zum einen induziert die Temperaturänderung eine Flüssigkeitsbewegung in den Dentintubuli und vermittelt eine Schmerz sensation über die A-Fasern. Zum anderen dehnen sich die pulpalen Blutgefäße durch die Wärme aus und bewirken eine Zunahme des intrapulpalen Drucks. Dadurch werden die im Pulpakern lokalisierten und mit einer hohen Reizschwelle versehenen C-Fasern stimuliert [2;9]. Im Falle einer fortschreitenden Entzündung

der Pulpa gehen die A-Fasern vor den resistenteren C-Fasern zugrunde. Wegen der Gefahr einer Pulpaschädigung durch intrapulpalen Druckanstieg ist die Wärmeapplikation - wenn überhaupt - nur sehr vorsichtig anzuwenden [3;9].

Bei der elektrischen Vitalitätsprüfung werden spezielle monopolare Geräte verwendet, die einen elektrischen Strom auf die Zahnhartsubstanzen übertragen. Durch die elektrische Leitfähigkeit der Zahnhartsubstanzen wird entlang der A-Nervenfasern das Ionengleichgewicht gestört und ein Aktionspotential ausgelöst. C-Fasern werden dabei nicht stimuliert. Besonders bei partiell nekrotischen Zähnen und jugendlichen Zähnen mit nicht abgeschlossenem Wurzelwachstum tritt bei der elektrischen Prüfung eine verhältnismäßig hohe Fehlerquote auf [3;9]. In seltenen Fällen ist die Probetrepanation, die einen mechanischen Reiz auslöst und mit einem erheblichen Verlust an Zahnhartsubstanz einhergeht, indiziert [3;21;57].

Das Absterben der Pulpa wird durch einen verminderten oder fehlenden pulpalen Blutfluss hervorgerufen, obwohl die sensible Funktion noch eine gewisse Zeit erhalten bleiben kann. Die indirekten Methoden zur Sensibilitätsprüfung sind daher oft ungenau [3] und es wurden vermehrt direkte Methoden und Geräte zur Durchblutungsmessung vorgeschlagen die im folgenden Kapitel vorgestellt werden.

2.4.2 Bestimmung der Zahndurchblutung

2.4.2.1 Laser-Doppler-Blutflussmessung

Die Laser-Doppler-Blutflussmessung (LDF) ist eine elektro-optische, nicht invasive, schmerzfreie und objektive Technik, die zur Bestimmung des pulpalen Blutflusses und somit direkt zur Bestimmung der Zahnvitalität herangezogen werden kann [47]. Das Messprinzip beruht dabei auf dem nach Prof. Christian Doppler benannten "Doppler-Effekt": Bei der Ausbreitung von Licht- oder Schallwellen kommt es zu einer Veränderung der Frequenz, dem so genannten Doppler-Shift, wenn sich Quelle und Beobachter relativ zueinander bewegen [25]. Als Lichtquelle werden häufig Helium-Neon-Laser mit einer Wellenlänge von 632 nm (rot) oder Laserdioden mit 780 nm (infrarot) verwendet. Das Laserlicht wird über ein fiberoptisches Kabel und eine Sonde durch die Zahnhartsubstanz auf die Pulpa und deren feinste Blutgefäße übertragen. Treffen Photonen des Lasers auf sich bewegende Erythrozyten, werden diese gestreut und erfahren eine Frequenzänderung nach dem Doppler Prinzip. Die Flussrichtung der Erythrozyten spielt dabei nur eine geringe Rolle. Photonen, die mit ruhenden Zellen interagieren, werden nur gestreut und unterliegen keinem Doppler-Shift [4;47]. Das Verhältnis

zwischen verändertem und unverändertem Licht lässt sich mit einem Photodetektor aufzeichnen und in ein elektrisches Signal umwandeln. Das Messsignal repräsentiert das Produkt aus der Anzahl der sich bewegendenden Erythrozyten und deren durchschnittlichen Flussgeschwindigkeit im Messbereich und wird in Perfusion Units (PU) angegeben [36;54]. Aussagen über die Durchblutung einzelner Kapillaren oder deren Durchmesser können mit der LDF-Technik wegen fehlender Ortsauflösung nicht getroffen werden [4].

Zum ersten Mal wurde die LDF durch Gazelius et al. [22] im Jahre 1986 zur Aufzeichnung des pulpalen Blutflusses humaner Zähne eingesetzt. Sie untersuchten mit einem konventionellen LDF-Gerät den Blutfluss vitaler Frontzähne. Die Ergebnisse wurden mit einer Kontrollgruppe, bestehend aus traumatisierten bzw. devitalen Zähnen verglichen. Bei den vitalen Zähnen konnte ein herzschragsynchroner Puls detektiert werden, während dieser bei der Kontrollgruppe ausblieb. In ihrem Versuchsdesign berücksichtigten sie, dass umliegende Gewebe Einfluss auf die sensiblen Messungen haben könnten und verwendeten einen grünen Kofferdam zur Abschirmung.

Akpınar et al. [4] untersuchten in ihrer *in vivo* Studie den Einfluss der labialen und palatinalen Gingiva auf die Laser-Doppler-Messungen an 20 Oberkiefer Frontzähnen. Bei Abschirmung der labialen Gingiva mit einer opaken Parodontalpaste (Peripac Parodontalverband; De Trey Dentsply, Deutschland) nahmen die Blutflusswerte um 46 %, bei kompletter Abschirmung der Gingiva sogar um 65 % ab. Der Einfluss der palatinalen Abschirmung auf die Abnahme der Blutflusswerte war dagegen nur sehr gering. Von ähnlichen Ergebnissen konnten Hartmann et al. [26] berichten. Trotz sorgfältiger Abschirmung der Gingiva durch Kofferdam, Metallfolien oder Silikonschienen ist es nicht möglich, gestreutes Licht aus dem parodontalen Gewebe vollständig zu eliminieren. Die Fähigkeit der Zahnhartsubstanzen, als Lichtleiter zu wirken, spielen dabei die entscheidende Rolle [47]. Das bei der LDF verwendete Laserlicht kann bis zu 6 mm tief in die Wurzel vordringen und durch Rückstreuung aus den parodontalen Geweben das pulpalen Messsignal stören. Bei Laser-Doppler-Blutflussmessungen der Haut oder Schleimhaut kann der Blutfluss lediglich bis zu einer Tiefe von 1-2 mm gemessen werden [4].

Neben der Abschirmung spielt auch die Positionierung der Messsonde bei den Laser-Doppler-Blutflussmessungen am Zahn eine entscheidende Rolle. Je näher die Sonde an den Gingivarand und auf das größere Pulpavolumen gebracht wird, umso größer fallen, trotz entsprechender Abschirmung der Gingiva, die Blutflusswerte aus. Gleichzeitig nimmt die Störung des Messsignals durch die durchblutete Gingiva zu. Daher wird ein Abstand von 2-3 mm zwischen Sonde und Gingivarand empfohlen [4;26;47]. Von der Untersuchungsgruppe um Edwall et al. [16] wird dagegen berichtet, dass die Sondenposition am Zahn nur eine untergeordnete Rolle spielt, da die LDF stets den kompletten Blutfluss der Kronenpulpa ermittelt. Besonders bei devitalen Zähnen können die durchbluteten parodontalen Gewebe eine vitale Pulpa vortäuschen und so zu falsch positiven

Vitalitätsergebnissen führen. Nicht anwendbar ist die LDF bei Zähnen mit großen Füllungsrestaurationen oder Kronen [4;47].

2.4.2.2 Photoplethysmographie

Die Photoplethysmographie (PPG) ist eine nicht invasive, optische Messtechnik, um die Durchblutung von Geweben zu bestimmen. Im Jahre 1936 wurden die ersten Geräte beschrieben, die Blutvolumenschwankungen an den Ohren von Hasen nachweisen konnten. Die durch die Systole und Diastole entstehenden Druckschwankungen sorgen für eine periodische Veränderung der Gefäßausdehnung die mittels der PPG gemessen werden kann. Dazu wird das Gewebe mit Licht einer definierten Wellenlänge beleuchtet und über einen Photodetektor kleinste Modulationen der Lichtintensität gemessen [5]. Als Signal erhält man eine pulsierende Komponente (AC-Komponente), die einer nichtpulsierenden DC-Komponente aufgelagert ist (Abb. 4).

Die AC-Komponente entspricht dabei dem Herzschlag [59] und wird größtenteils durch Veränderungen des Blutvolumens und die damit verbundenen Absorptionsänderungen moduliert. Auch die Bewegungen der Blutgefäße an sich sorgen für eine gewisse Modulation [5;48]. In neueren Publikationen [5;13;48] wird berichtet, dass die Orientierung der Erythrozyten in den Blutgefäßen eine weitere entscheidende Rolle zur AC-Komponente beitragen könnten. Näslund et al. [48] simulierten einen starren, pulsierenden Blutkreislauf und konnten mit humanem Blut bei einer Wellenlänge von 880 nm Photoplethysmographie-Signale erhalten. Mit zunehmendem Blutdruck nahm der Ausschlag der AC-Komponente zu. Bei Untersuchungen mit hämolysiertem Blut dagegen konnte kein pulsierendes Signal detektiert werden. Positive Messungen erhielten sie auch bei PPG-Untersuchungen an der starren und nicht ausdehnungsfähigen Kniescheibe.

Die DC-Komponente wird dagegen vom durchstrahlten Gewebe und vom relativen Blutvolumen im untersuchten Gewebereich beeinflusst. Die genauen Mechanismen, die zum PPG-Signal führen sind trotz zahlreicher Untersuchungen bis heute nicht vollständig verstanden [5].

Auch die Zahnpulpa ist in der Lage, eingestrahktes Licht pulssynchron zu modulieren [12;14;46]. Möglicherweise eignet sich die PPG, um die Durchblutung der Pulpa nachzuweisen und damit direkt zum Nachweis der Zahnvitalität. Ikawa et al. [31] konnten 1994 an 8 vitalen Frontzähnen mit einer LED der Wellenlänge 565 nm ein mit dem Herzschlag synchrones Pulssignal detektieren. Weitere Untersuchungen mit einer LED der Wellenlänge 695 nm und einer Wolframlampe lieferten erst nach Synchronisation mit dem EKG und anschließender Mittelung ein entsprechendes Pulssignal. Ein Nachweis, dass die Pulssignale von keinem anderen Gewebe als der Pulpa stammen, fehlt jedoch. Untersuchungen mit einer Kontrollgruppe devitaler Zähne oder einer entsprechenden Abschirmung der parodontalen Gewebe machten sie nicht. Die Arbeitsgruppe um Miwa et al. [46] konnten in ihrer

in vivo Studie an 33 Frontzähnen von Kindern 26 vitale von 7 nicht vitalen Zähnen mittels PPG unterscheiden. Die Untersuchungen fanden in Transmission statt und als Lichtquelle wurde eine grüne LED mit einer Wellenlänge von 525 nm verwendet. Eine Abschirmung der umliegenden Gewebe mittels schwarzem Kofferdam hatte keinen signifikanten Einfluss auf die PPG-Signale.

Den Einfluss der Blutkonzentration, der Blutflussrate und der Größe der Pulpakammer auf die PPG untersuchten Diaz-Arnold et al. [14] an extrahierten humanen Zähnen. Mittels einer Infusionspumpe wurde ein gleichmäßiger Blutfluss durch die Pulpakammer der Zähne erzeugt und Messungen bei einer Wellenlänge von 576 nm durchgeführt. Mit steigender Verdünnung des Blutes konnte eine signifikante Zunahme der Transmission registriert werden, reine Kochsalzlösung hatte die höchste Transmission. Charakteristisch für Messungen in der Transmission ist der nichtlineare Zusammenhang zwischen der Blutkonzentration und der Absorbanz, da nur ein geringer Teil des eingestrahlten Lichts die durchblutete Pulpakammer durchquert. Die Vergrößerung des Pulpakammervolumens zeigte bei gleichbleibender Blutflussrate eine Abnahme der Transmission. Eine Veränderung der Blutflussrate hatte keinen Einfluss auf die Transmission. Dies zeigt den grundlegenden Unterschied zwischen der LDF und der PPG. Während das Signal der PPG von der Anzahl der Erythrozyten im Messbereich abhängt spielt bei der LDF die Bewegung der Erythrozyten die entscheidende Rolle [14].

Die wohl bekannteste Anwendung der PPG ist die Pulsoxymetrie. Das unterschiedliche Absorptionsverhalten von oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin ermöglicht durch Messung mit rotem (640 nm) und infrarotem (960 nm) Licht die Bestimmung des Sauerstoffsättigungsgrades des Blutes. Häufig werden die Messungen an Finger oder Ohr läppchen durchgeführt [5;12;36]. Der isosbestische Punkt für oxygeniertes und desoxygeniertes Hämoglobin liegt bei 805 nm und Messungen in diesem Wellenlängenbereich sind größtenteils unabhängig vom Sauerstoffsättigungsgrad des Blutes [48]. In aktuellen Studien wird die Pulsoxymetrie vermehrt auch zum Nachweis der Zahnvitalität empfohlen und zeigt vielversprechende Ergebnisse [12;36;47]. Von 32 über den Kältetest als vital eingestuften Frontzähnen konnten Calil et al. [12] bei 28 Zähnen die Sauerstoffsättigung messen. Nebenbei zeigte sich, dass die Sauerstoffsättigung am Finger und am vitalen Zahn signifikant verschieden waren. Die durchschnittlichen Sättigungswerte lagen am Finger bei 95 %, während am vitalen Zahn nur 91 % Sauerstoffsättigung gemessen wurden. In der negativen Kontrollgruppe, bestehend aus 10 endodontisch behandelten Zähnen, konnte bei keinem ein Pulssignal und somit auch keine Sauerstoffsättigung nachgewiesen werden.

Abb. 4:

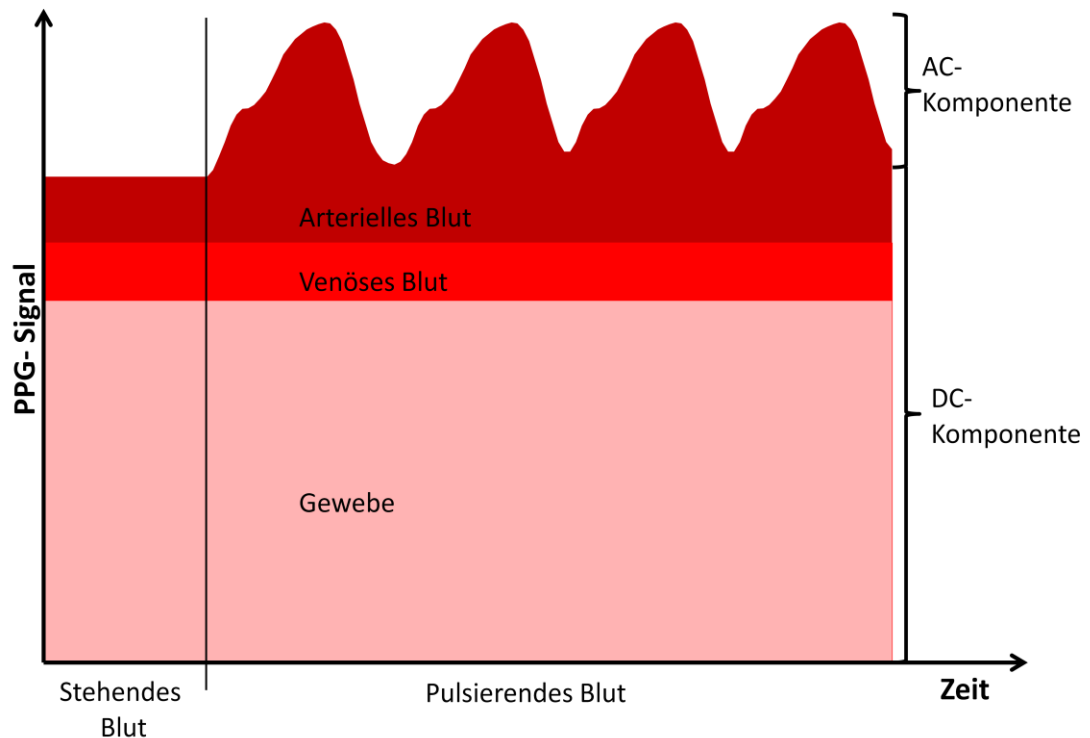


Abb. 4: Exemplarische Darstellung eines PPG-Signals für stehendes und pulsierendes Blut (Quelle: Modifiziert [59]). Die pulssierende AC-Komponente ist der konstanten DC-Komponente, die vom durchstrahlten Gewebe und vom relativen Blutvolumen im Messbereich beeinflusst wird, aufgelagert. Auf die fehlende AC-Komponente bei stehendem Blut soll hier besonders hingewiesen werden.

2.4.2.3 Laser-Speckle-Bildgebung

Die Laser-Speckle-Bildgebung (LSI) ist eine moderne Technik und aktuell Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. Zum ersten Mal wendeten Stern et al. [61] das Speckle-Phänomen auch für Durchblutungsmessungen an. Ein Speckle-Muster entsteht, wenn ein Objekt ungleichmäßiger Oberfläche (z.B. Blut) von einem kohärenten Laserlicht durchdrungen wird und die rückstreuende Strahlung auf einem Schirm, zum Beispiel einem CCD-Sensor, sichtbar gemacht wird. Entsprechend der Bewegungen des Objekts verändert sich auch das Speckle-Muster. Wird dieses Muster über die Zeit integriert und statistisch ausgewertet kann es das Flussprofil des untersuchten Objekts zeigen, wobei mit zunehmender Flussgeschwindigkeit der Kontrast der Speckle abnimmt. Die heutige, moderne Technik ermöglicht es, Echtzeitaufnahmen von der Blutzirkulation in Kapillaren mittels LSI aufzuzeichnen (Abb. 5). Angewendet wird die LSI unter anderem zur Untersuchung des retinalen Blutflusses und der Durchblutungsmessung bei transplantierten Hautlappen [8;55].

Stoianovici et al. [62] schlugen in ihrer *in vitro* Studie die LSI-Technik zur Beurteilung der Zahnvitalität mittels Durchblutungsmessung des pulpalen Gewebes vor. Sie untersuchten an 9 extrahierten Zähnen, sowohl in Transmission als auch in Reflexion, ob eine mit einer Fettlösung simulierte Durchblutung der Pulpa durch die LSI dargestellt werden kann. Dazu verwendeten sie einen Laser mit 633 nm, ein Linsensystem und eine CCD-Kamera. Zur Darstellung des Blutflusses war ein aufwändiges Datenverarbeitungsverfahren notwendig [52]. Bei den Transmissionsmessungen zeigte sich nach Einsetzen der Durchblutung eine signifikante Zunahme der LSI-Werte während bei Messungen in Reflexion keine Veränderung der Werte eintrat. Der Einstrahlungswinkel des Laserlichts hatte keinen Einfluss auf die Messergebnisse, was für spätere *in vivo* Untersuchungen von Vorteil sein könnte. Obwohl die LSI bei den *in vitro* Untersuchungen zur Zahnvitalität vielversprechende Ergebnisse gebracht hat, sind weitere Untersuchungen, vor allem auch *in vivo* notwendig [62].

Abb. 5:

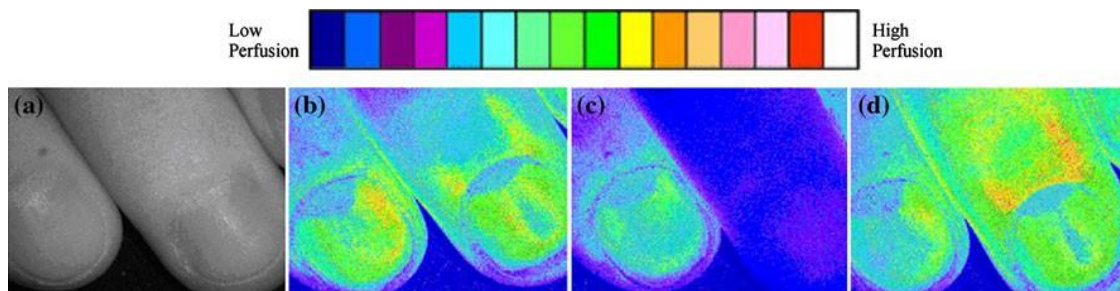


Abb. 5: Laser-Speckle-Bildgebung von zwei Fingerspitzen (Quelle: Modifiziert [17])
a: Fotoaufnahme der untersuchten Fingerspitzen, b-d: Laser-Speckle-Bildgebung.
Blutfluss in den Fingerspitzen unter physiologischen Bedingungen (b), unter Verschluss der Blutgefäße (c), bei Hyperämie (d)

2.5 Lichtwellenleiter

Lichtwellenleiter (LWL) stellen das wichtigste Medium in der modernen Signal-Übertragungstechnik dar und werden in der Medizin hauptsächlich im Bereich der Endoskopie und der Lasertherapie eingesetzt. Die heute gebräuchlichsten LWL-Fasern bestehen aus einem Kern und Mantel aus Quarzglas oder PMMA-Kunststoff und einer äußeren Schutzhülle [68]. Kern und Mantel stellen dabei die lichtleitenden Elemente dar und unterscheiden sich in ihrer optischen Dichte und damit in ihrem Brechungsindex. Dabei ist der Brechungsindex n_1 des Kerns stets größer als der Brechungsindex n_2 des Mantels [34]. Das Grundprinzip der Signalausbreitung in Lichtwellenleitern beruht auf der Totalreflexion: fällt ein Lichtstrahl auf die Grenzfläche zwischen dem optisch dichteren Kern und dem optisch dünneren Mantel, wird er in Abhängigkeit vom einfallenden Winkel entweder vom Einfallslot

weg gebrochen oder in den Kern zurück total reflektiert und dann im LWL weitergeleitet (Abb. 6) [68]. Als Maß für die Fähigkeit einer Faser, Licht zu fokussieren, wird die numerische Apertur ($NA = n_0 \cdot \sin \alpha_g$) angegeben. Dabei ist n_0 der Brechungsindex des umgebenden Mediums und α_g der Akzeptanzwinkel für die Lichteinkopplung [34]. Die zweifache numerische Apertur gibt den Winkelbereich an, innerhalb welchem die Faser in der Lage ist, Licht aus unterschiedlichen Richtungen aufzunehmen und in der Faser weiterzuleiten. Dieser Winkelbereich entspricht auch dem kegelförmigen Lichtbündel, das am Ende der Faser wieder austritt. Die Größe der einkoppelbaren Leistung hängt von der numerischen Apertur und vom Kerndurchmesser der Faser ab [15;68].

Glas-LWL bestehen meistens aus einem mit Germanium dotierten Quarzglaskern und einem Mantel aus reinem Quarzglas. Die Schutzhülle besteht aus speziellen Kunststoffen. Glas-LWL lassen sich wie folgt einteilen:

- Stufenindexfaser: Der Brechungsindex im Kern hat einen konstanten Wert und ist größer als der Brechungsindex im Mantel
- Gradientenindexfaser: Der Brechungsindex im Kern hat keinen konstanten Wert sondern nimmt zum Mantel hin quadratisch zu
- Single Mode Faser: Der Kerndurchmesser beträgt nur einige Vielfache der Lichtwellenlänge, zwischen $3\text{ }\mu\text{m}$ und $9\text{ }\mu\text{m}$ und die numerische Apertur ist gering. Abhängig von der Wellenlänge wird nur eine Mode übertragen und es tritt keine Modendispersion auf. Die Fasern werden hauptsächlich für große Distanzen eingesetzt.
- Multi Mode Faser: Der Kerndurchmesser liegt zwischen $50\text{ }\mu\text{m}$ und $1500\text{ }\mu\text{m}$ und es können sich mehrere Moden in der Faser ausbreiten. In diesen Fasern kann eine höhere Informationsdichte übertragen werden und sie eignen sich besonders für kurze Übertragungsstrecken.

Die Vorteile der Glas-LWL liegen in der großen Bandbreite, den kleinen realisierbaren Durchmessern und der geringen optischen Dämpfung. Problematisch sind dagegen die geringe Flexibilität und die relativ großen realisierbaren Biegeradien mit der Gefahr von Faserbruch. Außerdem sind sie im Vergleich zu Kunststoff-LWL wesentlich teurer [34].

2.5.1 Koppelverluste und optische Dämpfung beim Einsatz von Glas-Lichtwellenleitern

Die Übertragung von Licht in Glas-Lichtwellenleitern ist nicht zu 100 % effizient, da intrinsische und extrinsische Verluste auftreten. Besonders kritisch ist dabei die Einkopplung von Licht in einen LWL zu betrachten. Auf Seiten des LWL spielen dabei die numerische Apertur und der

Faserkerndurchmesser die entscheidende Rolle. Sind beide relativ klein wird die Einkopplung schwierig und verlustreicher [68]. Auf Seiten der Lichtquelle spielt die Abstrahlcharakteristik der Lichtquelle die entscheidende Rolle. Eine LED strahlt Licht unter sehr großen Winkeln ab und wird daher auch als Lambert-Strahler bezeichnet. Dabei kann nur ein relativ kleiner Bruchteil des emittierten Lichts in den LWL eingekoppelt werden und Verluste von über 90 % auftreten (Abb. 6B). Im Vergleich dazu weist eine Laserlichtquelle aufgrund ihrer hohen Strahlungsparallelität Einkoppeleffizienzen von 50 % und mehr auf [34].

Die in einen LWL eingekoppelte Lichtleistung fällt beim Durchlaufen des LWL exponentiell ab:

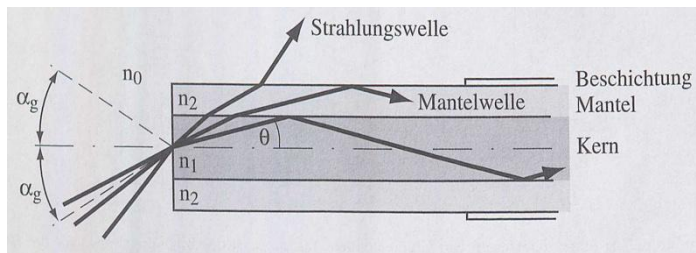
$$P_{\text{aus}} = P_{\text{ein}} \cdot 10^{-\alpha L}$$

(P_{ein} = Lichtleistung am Anfang des LWL, P_{aus} = Lichtleistung am Ende, α = Absorptionskoeffizient, L = Länge der durchlaufenen LWL-Strecke)

Dieser intrinsische Verlust wird als Dämpfung bezeichnet und hat seine Ursachen in der Materialabsorption, in Streuverlusten oder in Strahlungsverlusten durch Faserkrümmung. Bei der Materialabsorption wird Lichtenergie in der Faser in Wärme umgewandelt. Diese kann entweder durch Verunreinigungen im Glas mit Metall- und Hydroxylionen oder durch Wechselwirkung der elektromagnetischen Welle mit den Glaskomponenten entstehen. Quarzglas hat im Bereich zwischen 0,8 μm und 1,7 μm einen Bereich geringer Absorption und ist sehr anfällig für eine Absorptionszunahme durch Wasserdiffusion in die Glasfaser [34]. Streuverluste in der Glasfaser werden durch die so genannte Rayleigh-Streuung verursacht, die durch Schwankungen des Brechungsindex innerhalb des Faserkerns entsteht. Die durch die Rayleigh-Streuung verursachte Dämpfung ist proportional zu $1/\lambda^4$, sie nimmt also mit zunehmender Wellenlänge in der 4. Potenz ab [15;34]. Der Verlauf eines LWL ist selten geradlinig und homogen. Es treten Strahlungsverluste auf, die durch die Faserkrümmung verursacht werden und bei Abnahme des Radius zunehmen. Als Richtwert sollte ein Krümmungsradius von 3 cm nicht unterschritten werden, auch um die Gefahr eines Faserbruchs zu minimieren [15].

Abb. 6:

A



B

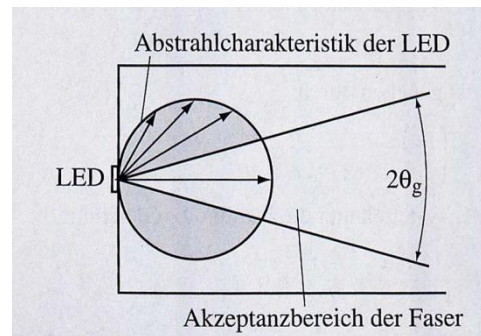


Abb. 6: A: Lichtausbreitung in einem Glas-LWL. Nur das Licht, das im Akzeptanzbereich ($2 \cdot \alpha_g$) auf die Faser trifft erfährt am Übergang Kern - Mantel die gewünschte Totalreflexion und wird im LWL weitergeleitet.
B: Abstrahlcharakteristik einer LED-Lichtquelle und Akzeptanzbereich einer LWL-Faser (Quelle: direkt übernommen [34])

2.6 Spektroskopische Eigenschaften von humanem Dentin und Blut

Mittels PPG (siehe Kapitel 2.4.2.2), eine direkte Zahnvitalitätsbestimmung zu erhalten, ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [12;14;31;46]. Bei der Messung der Pulpadurchblutung spielen die unterschiedlichen Transmissionseigenschaften von Schmelz, Dentin und Blut eine entscheidende Rolle. Es ist wichtig, eine Frequenz zu ermitteln, bei der die Lichttransmission durch die Zahnhartsubstanzen groß ist und bei der das Blut das transmittierte Licht gut absorbiert und entsprechend des Blutpulses moduliert [28]. Neben verschiedenen Arbeitsgruppen [18;31;63] haben auch wir [28] mit unserer Studie "Spectroscopic Study of human teeth and blood from visible to terahertz frequencies for clinical diagnosis of dental pulp vitality" einen Beitrag zu dieser Frequenzermittlung geleistet.

Der Schmelz verursacht im sichtbaren Wellenlängenbereich, zwischen 400 nm und 700 nm, eine starke Lichtstreuung, die eine Messung der Transmission erschwert. Durch die exponentielle Abnahme der Lichtstreuung bei Wellenlängen ab 700 nm und die vernachlässigbare Lichtabsorption beim Schmelz sind Transmissionsmessungen im längeren Wellenlängenbereich begünstigt [18;35].

In unserer Studie [28] wurden Transmissionsspektren im Wellenlängenbereich von 600 nm-80000 nm von Dentinscheiben unterschiedlicher Dicke sowie von kompletten Zähnen vorgestellt. Für Wellenlängen ab 2500 nm konnte schon bei den dünnsten Dentinscheiben (200 μm) nur noch eine sehr geringe Transmission von annähernd Null, detektiert werden (siehe auch Kapitel 5.3). Es ist jedoch allgemein bekannt, dass längere Wellenlängen beim Auftreffen auf Objekte weniger stark gestreut werden. Da die untersuchten Dentinscheiben stets feucht gehalten wurden ist die Zunahme des Absorptionskoeffizienten von Wasser oberhalb von 1550 nm eine mögliche Erklärung für dieses

Verhalten [28;35]. Ein Bereich hoher Transmissionswerte konnte sowohl an den Dentinscheiben als auch an den kompletten Zähnen zwischen 900 nm und 1330 nm beobachtet werden.

Ein Spektrum im Wellenlängenbereich von 200 nm bis 2500 nm wurde von Strawn et al. [63] für humane Dentinscheiben ($0,75 \pm 0,25$ mm) aufgezeichnet. Dabei ergab sich zwischen 600 nm und 1200 nm ein Bereich erhöhter Transmission. Außerdem konnte gezeigt werden, dass kein Unterschied in den optischen Eigenschaften zwischen pulpanahen und pulpafernen Dentinscheiben bestand. Ikawa et al. [31] berichten in ihren Spektroskopieuntersuchungen an extrahierten Zähnen von einer Absorptionzunahme unterhalb von 600 nm. Auch für untersuchtes Blut ermittelten sie unterhalb von 600 nm eine Zunahme der Absorption, so dass sie für PPG-Untersuchungen am Zahn einen Wellenlängenbereich von 500 nm bis 600 nm vorschlugen. Unsere Untersuchungen [28] an humanem Blut ergaben zwei lokale Transmissionsminima bei $\lambda=1450$ nm und $\lambda=1900$ nm sowie drei lokale Maxima bei $\lambda=1300$ nm, 1700 nm und 2200 nm. Wir ermittelten das beste Verhältnis zwischen der Dentintransparenz und der Blutabsorption im Bereich zwischen 850 nm und 1380 nm. Messungen in diesem Wellenlängenbereich scheinen für PPG-Untersuchungen geeignet [28].

3. Fragestellung

Optische Verfahren zur Bestimmung der Zahnvitalität können, wie es die Aussagen in der Literatur vermuten lassen, gewisse Vorteile gegenüber den konventionellen Techniken bieten. Die starre Ummantelung der Pulpa mit den Zahnhartsubstanzen und die an den Zahn angrenzenden parodontalen Strukturen erschweren die praktische Umsetzung jedoch erheblich. Insbesondere die Anwendung der Photoplethysmographie ist davon betroffen, da die auf Volumenveränderungen der Blutgefäße basierende Signalmodulation durch die eingeschränkte Ausdehnungsfähigkeit der Pulpa beeinflusst wird. Auch können die durchbluteten parodontalen Strukturen Einfluss auf das PPG-Signal haben. Dennoch lassen die bisher in der Literatur vorgestellten Ergebnisse vermuten, dass eine optische Detektion der Zahndurchblutung mittels PPG möglich ist. In der Dissertation Niklas [49] wurde eine Versuchsanordnung vorgestellt, mit der die Durchblutung eines Zahnmodells mittels PPG gemessen werden konnte. Die vorliegende Arbeit stellt eine Weiterführung der Untersuchungen von Niklas dar, greift seine Versuchsanordnung und Ergebnisse auf und entwickelt diese vor allem im Hinblick auf eine praxistaugliche Apparatur weiter. Dazu wurde seine Versuchsanordnung weiterentwickelt und überprüft, eine Signalübertragung mittels Lichtleitern realisiert und damit folgende Aspekte untersucht:

1. Es wurde eine elastische und starre Pulpa durch entsprechende Schläuche im Zahnmodell simuliert und Untersuchungen bei einer Wellenlänge von 785 nm durchgeführt.
2. Anschließend wurden unterschiedliche Wellenlängen und deren Eignung für die Photoplethysmographie am Zahn untersucht.
3. Zur weiteren Annäherung an das anatomische Vorbild wurde ein Gingivamodell in die Versuchsanordnung integriert, um den möglichen Einfluss parodontaler Strukturen auf das PPG-Signal zu ermitteln.
4. Am selben Modell wurden die Auswirkungen einer gingivalen Abschirmung aus Alufolie geprüft.

Zusätzlich wurden die spektroskopischen Eigenschaften von humanem Dentin im Bereich von $0,8\text{ }\mu\text{m}$ - $3,0\text{ }\mu\text{m}$ gemessen und die Transmissionsmessungen am FTIR-Spektrometer durch das Terahertz Zentrum an der Fakultät für Physik der Universität Regensburg durchgeführt.

4. Material und Methoden

4.1 Entwicklung der Versuchsanordnung für Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Zahnmodell

Die grundlegende Versuchsanordnung für die *in vitro* Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell, die auf Basis der in Niklas [49] vorgestellten Anordnung im Rahmen der vorliegenden Arbeit weiter entwickelt wurde, ist in Abb. 7 dargestellt. Mit Ziffern wurden Komponenten bezeichnet, die in den nachfolgenden Untersuchungen variiert wurden.

Abb. 7:

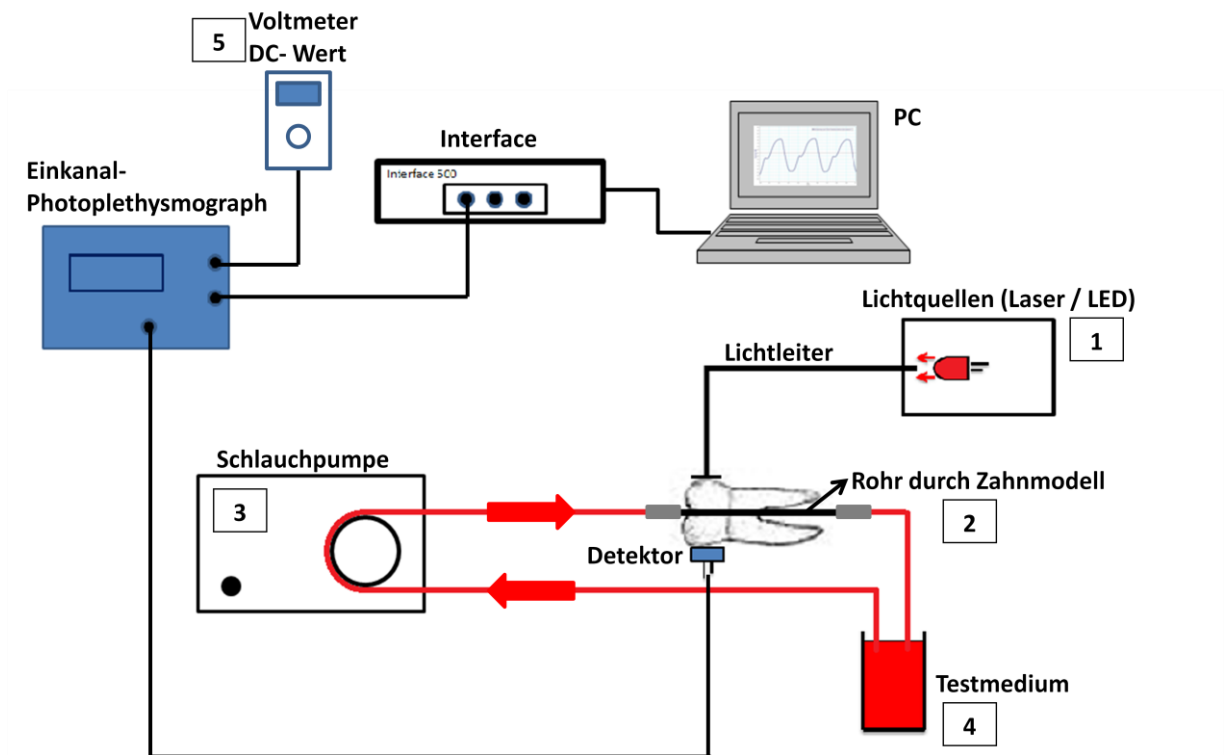


Abb. 7:

Schematische Darstellung der Versuchsanordnung "Zahnmodell"

Der Lichtleiter übertrug das Licht der Lichtquellen (1) auf das Zahnmodell, durch das ein elastisches oder starres Rohr (2) geführt wurde.

Rot dargestellter Kreislauf: Mit einer Schlauchpumpe konnten mit der Frequenz (3) F1 oder F2 verschiedene Testmedien (4) pulsierend durch den simulierten Blutkreislauf gepumpt werden.

Das Messsignal wurde vom Detektor auf den Einkanal-Photoplethysmographen übertragen, dieser filterte und verstärkte es (ca. 12000-fach). Das aufbereitete Signal wurde über das Interface auf den PC übertragen und dort graphisch dargestellt und ausgewertet.

Über den DC-Wert (5) konnte die Helligkeit der Lichtquellen validiert werden.

Folgende Parameter wurden in der Anordnung variiert und entsprechende Untersuchungen dazu durchgeführt:

1. Lichtquellen: Es wurde ein Laser- und ein LED-Lichtmodul mit fünf verschiedenen Wellenlängen verwendet; (Details siehe 4.1.1).
2. Rohr: Das Rohr führte in pulpaaxialer Richtung durch das Zahnmodell. Es wurden zwei verschiedene Materialien eingesetzt; (Details siehe 4.1.2).
3. Frequenz: Die Pulsfrequenz des Blutkreislaufs konnte über die Schlauchpumpe variiert werden; (Details siehe 4.1.4).
4. Testmedien: Es wurden drei verschiedene Testmedien untersucht; (Details siehe 4.1.6).
5. DC-Wert: Es wurden Untersuchungen mit zwei verschiedenen DC-Werten durchgeführt; (Details siehe 4.1.1.2).

In der vorliegenden Arbeit kamen Materialien und Geräte zum Einsatz, die von Niklas entwickelt und gebaut und an den entsprechenden Stellen mit "Eigenbau Niklas" gekennzeichnet wurden. Für detaillierte Informationen bezüglich dieser Materialien und Geräte wird auf seine Arbeit [49] verwiesen.

4.1.1 Entwicklung der Lichtquellenmodule für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell

Die Lichtquellenmodule bestanden aus einer Lichtquelle und einer Vorrichtung zur Ankopplung an einen Lichtleiter. Als Lichtleiter wurde ein flexibler Hochleistungslichtwellenleiter (ca. 330 Einzelfasern, Fasertyp: LB 50 μm , Bündeldurchmesser: 1 mm, Länge: 50 cm; Sonderanfertigung durch Leoni Fiber Optics GmbH, Deutschland) verwendet. An beiden Enden war eine zylindrische Aluminiumhülse (Außendurchmesser: 2 mm) angebracht, um eine solide Befestigung durch Spannzangen zu ermöglichen.

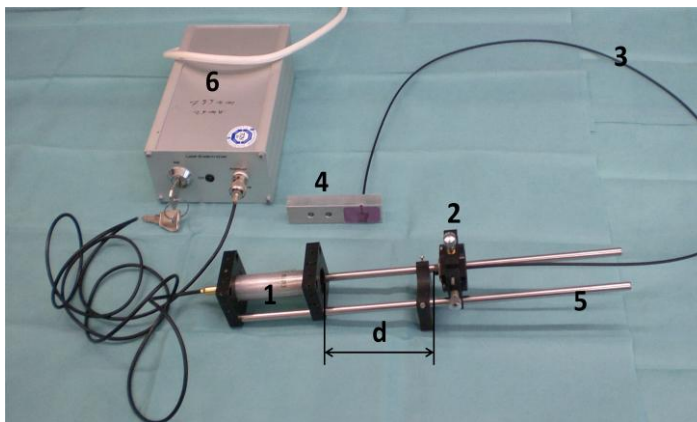
4.1.1.1 Entwicklung und Bau des Lasermoduls für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell

Als Lichtquelle wurde eine Laserdiode (L785P025, 25 mW; Thorlabs GmbH, Deutschland) mit einer Wellenlänge von 785 nm verwendet. Diese wurde durch die Elektronikwerkstatt Physik (Universität Regensburg, Deutschland) in ein stabiles Aluminiumgehäuse integriert und mit einem Transformator

verkabelt (Abb. 8A). Der Laser wurde nun auf einer optischen Bank (Länge 30 cm; Standard) mit zwei entsprechenden Halterungen fixiert. Die Einkopplung des Laserstrahls in den Lichtleiter erfolgte über einen fiberoptischen Stecker (Connector Splice, Teilenummer: IF-C-S4; Industrial Fiber Optics, Inc., USA), der mit einer Handsäge mittig halbiert und anschließend entgratet wurde. Mit einem zweidimensional verstellbaren Optikhalter (Zubehör optische Bank; Standard) wurde der fiberoptische Stecker auf der optischen Bank befestigt. Der Abstand zwischen Laserdiode und Lichtleiter betrug 10 cm und über die beiden äußeren Rändelschrauben wurde die Feinjustierung des Lichtleiters vorgenommen (Abb. 8B).

Abb. 8:

A



B

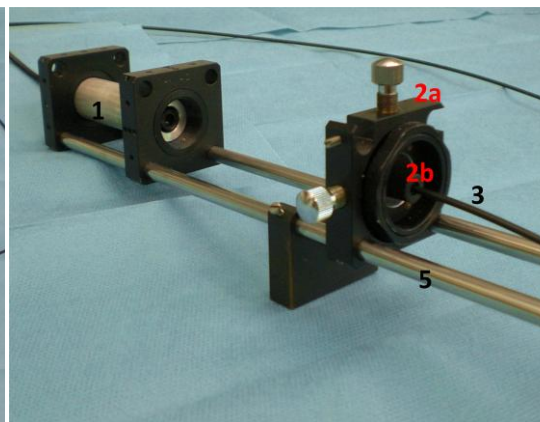


Abb. 8: A: Darstellung des Lasermoduls mit der Vorrichtung zur Ankopplung an den Lichtleiter. Das Licht des Lasers (1) wurde über die Vorrichtung (2) in den Lichtleiter (3) übertragen. Der Abstand zwischen Laser und Lichtleiter betrug $d = 10$ cm. Am anderen Ende des Lichtleiters befand sich die Lichtleiterzahnklammer (4). Der Laser wurde auf der optischen Bank (5) befestigt und mit dem Transformator (6) verkabelt. B: Befestigung des Lichtleiters (3) mit dem zweidimensional verstellbaren Optikhalter (2a) und dem fiberoptischen Stecker (2b).

4.1.1.2 Entwicklung und Bau des LED-Lichtmoduls für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell

Als Basisbauteil wurde ein Power Demo Board (ohne Seriennummer; OSRAM Opto Semiconductors GmbH, Regensburg, Deutschland; Abb. 9) verwendet, auf dem im oberen Bereich sechs LEDs und drei Tasterschalter ausgelötet und durch fünf Hochleistungs-LEDs (Golden Dragon LED; OSRAM, Deutschland) ersetzt wurden:

- 470 nm (blau), Teilenummer LB W5SM
- 528 nm (grün), Teilenummer LT W5SM
- 590 nm (gelb), Teilenummer LY W5SM
- 625 nm (rot), Teilenummer LR W5SM
- 940 nm (IR), Teilenummer SFH 4231

Die Platine wurde so modifiziert und verkabelt, dass jede LED über einen separaten Stromkreis angesteuert werden konnte (Abb. 10).

Zur variablen Ankopplung des Lichtleiters an die verschiedenen LEDs wurde ein Aufbau mit Spannzangen entwickelt und durch die mechanische Werkstatt Physik (Universität Regensburg, Deutschland) aus Aluminium hergestellt. Die Spannzangen wurden exakt über den LEDs positioniert und der Aufbau mit der Platine verschraubt (Abb. 11A und B). Zur Kühlung der Widerstände und der LEDs wurde die gesamte Platine in ein Gehäuse aus Aluminium mit einem integrierten Lüfter eingebaut (Eigenbau). Abschließend wurde das LED-Lichtmodul über Bananenstecker (Standard) an ein Labornetzgerät (Digi 35; Voltcraft, Deutschland) angeschlossen, mit dem die Helligkeit der LEDs durch Regulierung der Stromstärke stufenlos verändert werden konnte. Dabei war zu beachten, die Stromstärke von 500 mA nicht zu überschreiten. Die Helligkeit der LEDs konnte über den DC-Wert (Gleichstromwert) validiert und durch Regulierung der Stromstärke am Labornetzgerät auf ein gleiches Niveau eingestellt werden. Der DC-Wert wurde bei durchblutetem Zahnmodell bestimmt und konnte an einem speziellen Ausgang des Einkanal-Photoplethysmographen über ein Voltmeter (Standard) abgegriffen werden. Bei den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 2a (siehe Tab. 2, Kapitel 4.2) wurde ein DC-Wert von 3,9 mV, bei denen mit der Versuchs-ID 2b (Tab. 2) ein DC-Wert von 41,0 mV ermittelt und die Helligkeit der LEDs entsprechend angepasst.

Abb. 9:

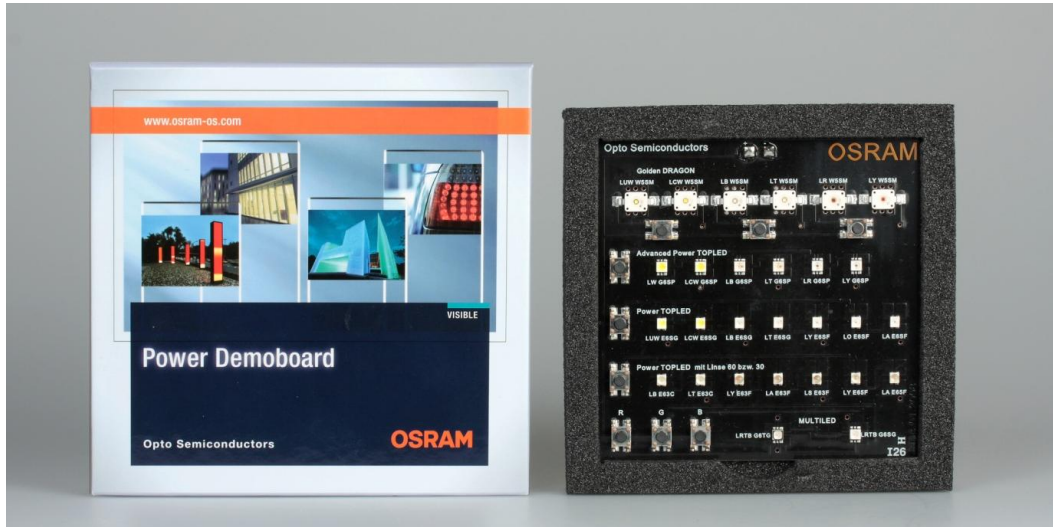


Abb. 9: Power Demo Board (OSRAM Opto Semiconductors GmbH, Regensburg, Deutschland)

Abb. 10:

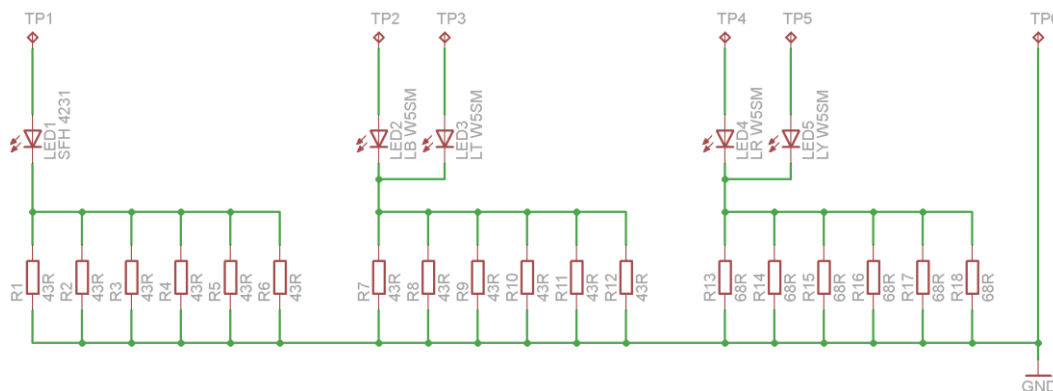


Abb. 10: Schaltplan des LED-Lichtmoduls, erstellt mit Eagle Layout-Editor (Version 5; CadSoft Computer GmbH, Deutschland)

Abb. 11:

A



B



Abb. 11: A: LED-Lichtmodul mit dem Aufbau zur Ankopplung an Lichtleiter
B: LED-Belegung der Spannzangen

4.1.2 Entwicklung des Zahnmodells

Bei dem Zahnmodell (Abb. 12; Eigenbau Niklas [49]) handelte es sich um einen extrahierten, karies- und füllungsfreien humanen Molaren, der in Kunststoff gesockelt wurde. In pulpaaxialer Richtung befand sich ein Bohrloch mit einem Durchmesser von 2,5 mm. Durch das Bohrloch wurde ein Rohr geführt, das über Schlauchverbinder aus Kunststoff (Standard) mit dem restlichen Blutkreislauf verbunden wurde. Der Untersuchungsparameter "Rohr" konnte durch zwei verschiedene Schläuche variiert werden:

1. Elastischer Silikonschlauch (BD Valu Set, 0.6x20 mm, Innendurchmesser: 1 mm, Außendurchmesser: 2 mm, Länge: 20 cm; Becton Dickinson GmbH, Deutschland)
2. Starrer PTFE-Schlauch (Teflon, Außendurchmesser: 1,8 mm, Innendurchmesser: 1 mm, Länge: 20 cm; Standard).

Abb. 12:

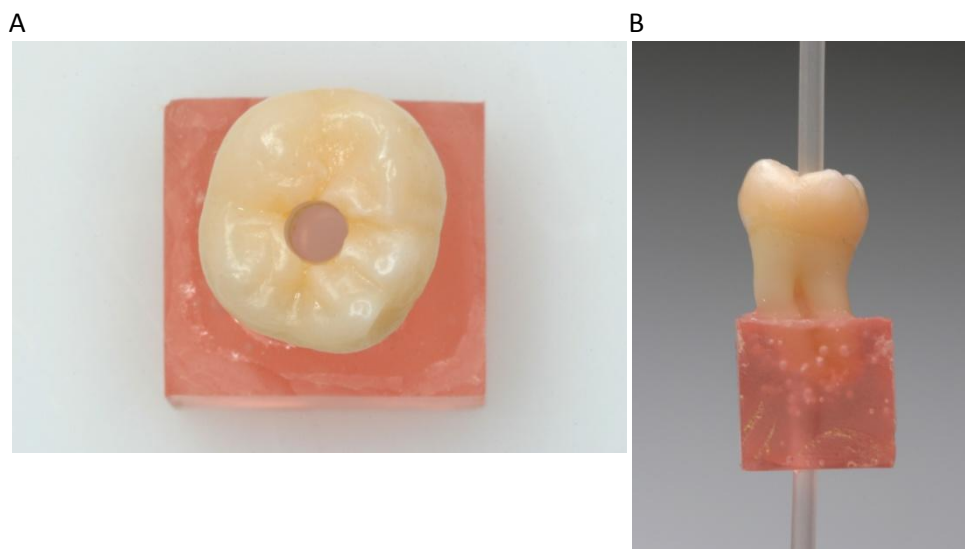


Abb. 12: A: Zahnmodell mit zentralem Bohrloch in pulpaaxialer Richtung
B: Durch das Bohrloch des Zahnmodells geführtes Rohr aus Silikon

4.1.3 Entwicklung und Bau einer Klammer zur Fixierung von Lichtleiter und Detektor am Zahnmodell

Das Klammergehäuse für die Lichtleiter- und Detektorklammer wurde entsprechend der technischen Zeichnung (Abb. 13 in Diss. Niklas [49]) durch die mechanische Werkstatt Physik (Universität Regensburg, Deutschland) aus Aluminium hergestellt. Dadurch war es möglich, reproduzierbare Messungen mit einer definierten Position des Lichtleiters sowie des Detektors unter bestmöglicher Abschirmung des Umgebungslichts zu erhalten.

Zuerst wurde eine der beiden Klammerhälften mit zahnärztlichem Abformmaterial (Silagum mono, A-Silikon; DMG, Deutschland) befüllt und der elastische Silikonschlauch durch den Bohrkanal geführt. Das Zahnmodell wurde in das Abformmaterial eingepasst und dieses nach dem Abbindevorgang mit einem Skalpell auf das Niveau der Klammeroberfläche reduziert. Nach der Isolation des abgebundenen Silikons mit Vaseline wurde die zweite Klammerhälfte befüllt, ein Abdruck gegen die erste Abformung mit dem darin enthaltenen Zahnmodell gemacht und die beiden Klammern fest miteinander verschraubt. Nach dem Aushärten wurden die Klammerhälften getrennt, das Zahnmodell herausgenommen und überschüssiges Silikon mit einem Skalpell entfernt. Mit einer Ständerbohrmaschine (Bohr-Fräsmaschine EBF 060, Baujahr 2004; Rotwerk, Deutschland) wurde an der tiefsten Impression der ersten Klammerhälfte eine durchgehende Bohrung mit 3 mm Durchmesser angebracht um den Lichtleiter und den Detektor an der dicksten Stelle des Zahnes zu platzieren. Damit Detektor und Lichtleiter exakt gegenüberliegend angebracht werden konnten, wurden die beiden Hälften miteinander verschraubt und ein durchgehendes Loch mit 3 mm Durchmesser durch beide Klammerhälften gebohrt, wobei die Bohrung der ersten Klammerhälfte als Schablone diente. Zur identischen Reposition des Lichtleiters am Zahnmodell wurde eine Spannzange (Innendurchmesser: 2 mm; Sonderanfertigung durch Mechanische Werkstatt Physik) angefertigt. Diese wurde über dem Bohrloch aufgebracht und mit drei Zylinderschrauben befestigt (Abb. 13A und B).

Als Detektor wurde eine Photodiode ohne Tageslichtfilter (SFH 229; Siemens, Deutschland) verwendet und in die zweite Zahnklammer, die Detektorklammer, integriert. Dazu wurde das Zahnmodell in die Detektorklammer eingepasst und die Photodiode in den Bohrkanal gesteckt. Die definitive Befestigung erfolgte mit einem Zweikomponentenkleber (Standard), dem zu 20 % schwarzes Pigmentpulver (rebenschwarz, FDXX.01; Breddermann Kunstharze, Deutschland) beigemischt wurde. Dies diente der optimalen Abschirmung des Umgebungslichts auch von hinten. Nun wurde der Detektor laut Schaltplan des Einkanal-Photoplethysmographen [49] mit einem Sensorkabel (Standard) und einem DE9-Stecker (Standard) verdrahtet. Dabei war es wichtig, die Abschirmung des Sensorkabels auf Masse zu legen (Abb. 13A und B).

Abb. 13:

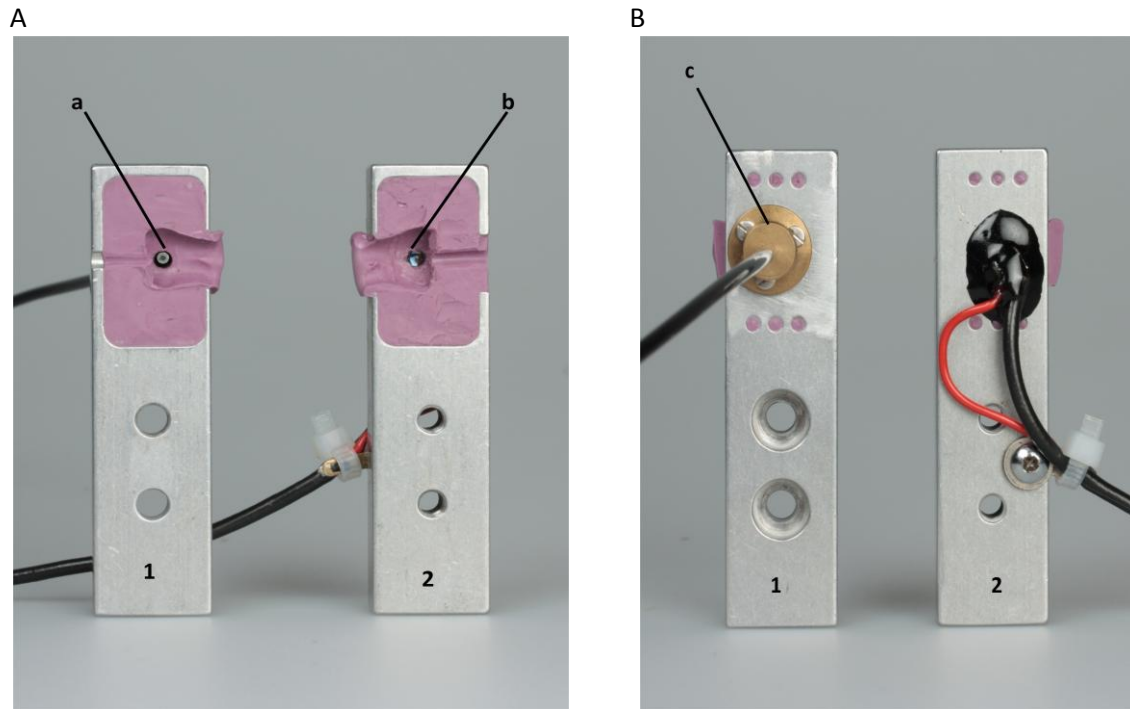


Abb. 13: A: Lichtleiter (1)- und Detektorklammer (2) von vorne mit dem Lichtleiter (a) und der Photodiode (b)
B: Lichtleiter (1)- und Detektorklammer (2) von hinten mit der Spannzange (c) und dem darin fixierten Lichtleiter

4.1.4 Aufbau des Blutkreislaufs für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell

Mit einer Schlauchpumpe (Multifix SP Mini; Eigenbau) wurde ein kontinuierlich pulsierender Blutkreislauf durch ein Schlauchsystem erzeugt (Abb. 14). Dazu wurde ein Silikonschlauch (Innendurchmesser: 3 mm, Außendurchmesser: 4,5 mm, Länge: 1 m; Standard) durch die Schlauchpumpe geführt und über einen Schlauchverbinder mit dem jeweiligen Rohr verbunden. Das Testmedium befand sich in einer Laborgewindeflasche (100 ml; Standard) und wurde mit Pulsfrequenzen von 3 Hz (F1) bzw. 5 Hz (F2) durch die Silikonschläuche gepumpt. Mit einer Halteklammer und einem Stativ wurde der dicke Silikonschlauch zwischen Pumpe und Zahnmodell fixiert, damit Schwingungen des Schlauchsystems und somit eine Verfälschung der Messergebnisse verhindert werden konnten.

Abb. 14:

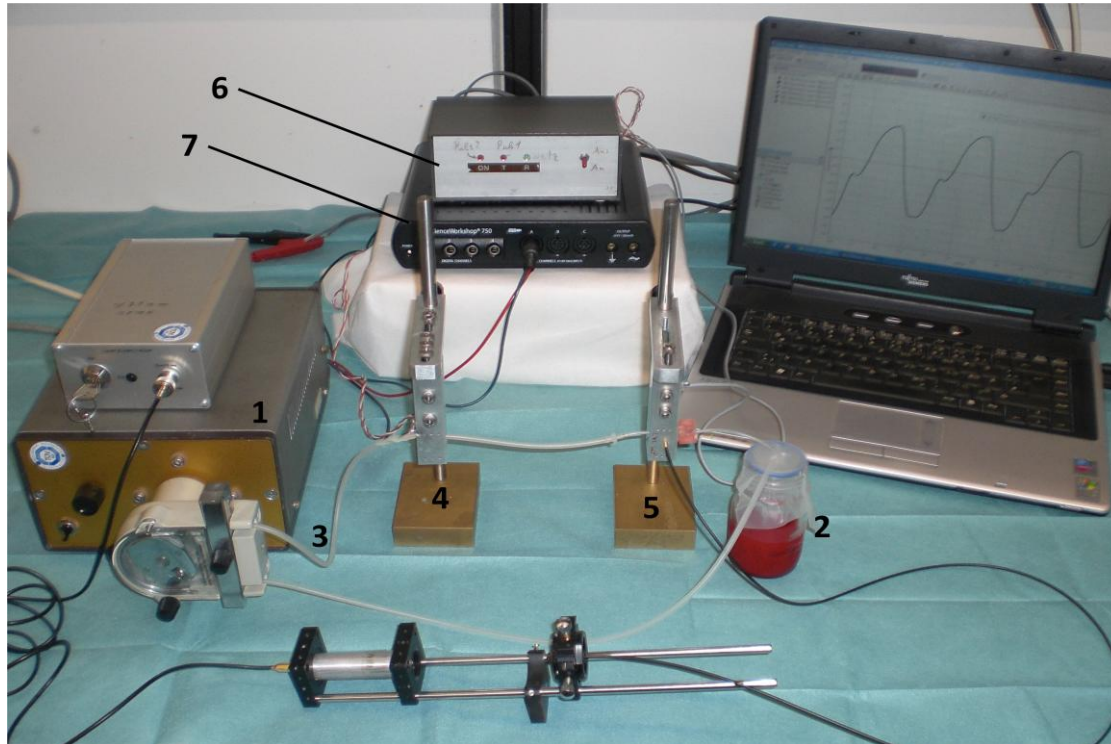


Abb. 14: Mit der Schlauchpumpe (1) wurde das Testmedium (2) durch das Schlauchsystem (3) gepumpt. (4) Halteklammer an Stativ; (5) Lichtleiter- und Detektorklammer mit Zahnmodell; (6) Einkanal-Photoplethysmograph; (7) Interface

4.1.5 Entwicklung der Apparatur zur Signalauswertung der Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell

Das Messsignal des Detektors wurde mit einem Einkanal-Photoplethysmographen gefiltert und etwa um den Faktor 12000 verstärkt. Dazu wurde ein Zweikanal-Photoplethysmograph (Eigenbau Niklas [49]), der sowohl in der Lage war, ein Messsignal als auch ein Referenzsignal zu verarbeiten, verwendet und der Referenzkanal durch Ausbau des Mikrochips stillgelegt. Die Detektorklammer wurde über den DE9-Stecker am Eingang des Plethysmographen angeschlossen und der Signalausgang des Photoplethysmographen mit dem analogen Eingang des Interface 500 (CI-6400; PASCO, USA) verbunden. Über einen USB-Port wurde das Interface an einen Laptop (Amilo M1425; Fujitsu Siemens) angeschlossen und die gemessenen Daten aufgezeichnet. Um die Funktionsfähigkeit des Geräts zu validieren, wurde ein Fingerpuls messkopf an den Eingang des Photoplethysmographen angeschlossen und der Puls eines humanen Zeigefingers aufgezeichnet (Abb. 15).

Abb. 15:

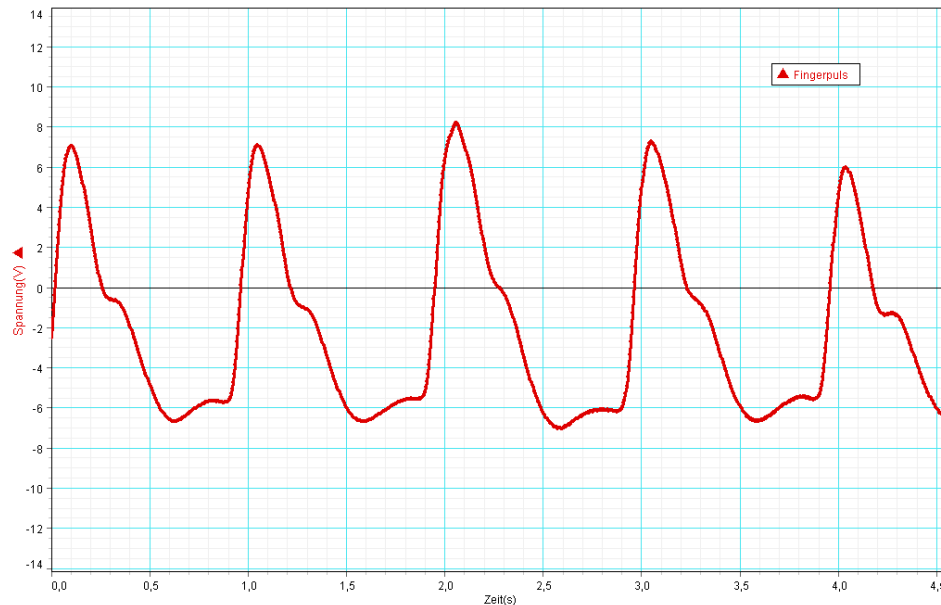


Abb. 15: Mit dem Einkanalphotoplethysmographen erfasstes Pulssignal eines humanen Zeigefingers

4.1.6 Herstellung der Testmedien für Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell

Die drei Testmedien der Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell wurden mit humanem, leukozytendepletiertem Erythrozytenkonzentrat hergestellt. Dazu wurden zwei Blutkonserven (Blutbank, Universitätsklinikum Regensburg, Deutschland) verwendet. Am Tag der Messung war das Mindesthaltbarkeitsdatum der Blutkonserve um maximal eine Woche überschritten und die Blutgruppen variierten nach Verfügbarkeit. Von jeder Blutkonserve wurde der Erythrozytengehalt standardmäßig mit einer Zählkammer (Typ Neubauer Improved, Tiefe 0,1 mm, 0,0025 mm²; Labor Optik, Deutschland) unter dem Lichtmikroskop bestimmt. Die resultierenden Erythrozytenkonzentrationen wurden in Tab. 1 dargestellt. Um die mechanische Zerstörung und die Aggregation der Erythrozyten während der Versuche zu reduzieren wurde dem Erythrozytenkonzentrat in Anlehnung an Klingebiel [39] Synperonik F68 (Serva Electrophoresis GmbH, Deutschland) zugesetzt. Aus dem Erythrozytenkonzentrat wurden die Testmedien (EK unverdünnt (EK), EK 1:10 verdünnt (EK 1:10) und EK 1:100 verdünnt (EK 1:100)) mit folgender Verdünnungsreihe [49] hergestellt:

1. 10 %ige Synperonic/NaCl-Lsg.: 1 g Synperonic + 10 ml 0,9 %ige NaCl-Lsg.
2. EK: 600 µl 10 %ige Synperonic/NaCl-Lsg. + 59,4 ml Erythrozytenkonzentrat
3. EK 1:10: 54 ml 0,9 %ige NaCl-Lsg. + 6 ml EK
4. EK 1:100: 59,4 ml 0,9 %ige NaCl-Lsg. + 600 µl EK

Tab. 1:

Versuchs-ID	Mindesthaltbarkeitsdatum	Anzahl Erythrozyten / μl
1a und 1b	14.06.10	$5,61 \times 10^6$
2a und 2b	19.09.10	$5,39 \times 10^6$
Durchschnittlicher Erythrozytengehalt		$5,50 \times 10^6$

Tab. 1: Erythrozytengehalt der für die Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell verwendeten Blutkonserven

4.2 Untersuchungsgruppen am Zahnmodell

Die folgende Tabelle 2 zeigt die Untersuchungsgruppen der durchgeführten Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell. Jede Untersuchungsgruppe hatte eine bestimmte Ausprägung der Parameter "Lichtquelle", "Rohr", "Frequenz", "Testmedium" und "DC-Wert" (Abb. 7). Bei den Untersuchungsgruppen mit der Versuchs-ID 1 und 2 wurde jeweils eine neue Blutkonserve verwendet (Tab. 1).

Tab. 2:

Versuchs-ID	Lichtquelle	Rohr	Frequenz	Testmedium	DC-Wert
1a	Laser, 785 nm (rot)	Elastisch	F1	EK EK 1:10 EK 1:100	*)
1a	Laser, 785 nm (rot)	Elastisch	F2	EK EK 1:10 EK 1:100	*)
1b	Laser, 785 nm (rot)	Starr	F1	EK EK 1:10 EK 1:100	*)
1b	Laser, 785 nm (rot)	Starr	F2	EK EK 1:10 EK 1:100	*)
2a	LED, 470 nm (blau)	Elastisch	F1	EK	3,9 mV
2a	LED, 528 nm (grün)	Elastisch	F1	EK	3,9 mV
2a	LED, 590 nm (gelb)	Elastisch	F1	EK	3,9 mV
2a	LED, 625 nm (rot)	Elastisch	F1	EK	3,9 mV
2a	LED, 940 nm (IR)	Elastisch	F1	EK	3,9 mV
2b	LED, 625 nm (rot)	Elastisch	F1	EK	41,0 mV
2b	LED, 940 nm (IR)	Elastisch	F1	EK	41,0 mV

Tab. 2: Untersuchungsgruppen der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Zahnmodell mit den Untersuchungsparametern "Lichtquelle", "Rohr", "Frequenz", "Testmedium" und "DC-Wert"

*) Für die Messungen mit dem Laser war es nicht notwendig, den DC-Wert zu kontrollieren

Pro Untersuchungsgruppe mit der Versuchs-ID 1a, 1b und 2a wurden sechs, für 2b zwei Stichproben gemessen. Für jede Stichprobe wurde das Messsignal 10 Sekunden lang aufgezeichnet. Nach jeder untersuchten Stichprobe wurde der Blutkreislauf angehalten, entleert und mit 0,9 %iger NaCl-Lösung gespült. Der Lichtleiter wurde sowohl an der Zahnklammer als auch am Lichtmodul abgekoppelt und das Testmedium in der Laborgewindeflasche aufgeschüttelt. Danach wurde die nächste Stichprobe untersucht.

Um das Messsignal eindeutig dem Puls der Pumpe zuordnen zu können, wurde für jede neue Untersuchung ein Vorversuch mit einem Druckmesssensor (Low Pressure Sensor, CI- 6534, PASCO, USA), der über einen Y-Verbinder aus Kunststoff (Standard) in den Schlauchkreislauf eingekoppelt wurde, durchgeführt. Dieser konnte direkt mit dem Interface verbunden werden und erzeugte ein pulssynchrones Referenzsignal. Damit konnte sichergestellt werden, dass die am Zahnmodell detektierten Signale nicht von anderen Quellen als dem pulsierenden Blut herrührten.

4.3 Entwicklung der Versuchsanordnung für Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Gingivamodell

Die grundlegende Versuchsanordnung für die *in vitro* Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf Basis von Abb. 7 entwickelt wurde, ist in Abb. 16 dargestellt. Die mit Ziffern bezeichneten Komponenten konnten in den nachfolgenden Untersuchungen variiert werden.

Abb. 16:

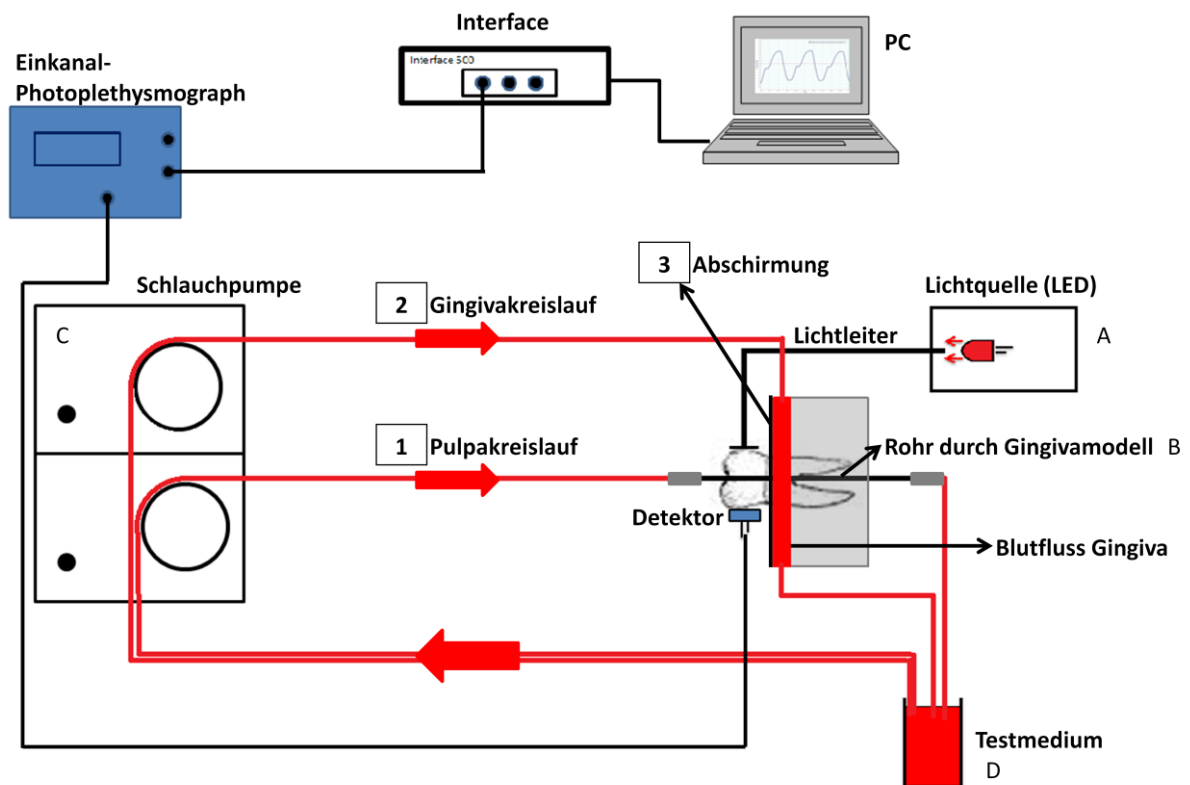


Abb. 16: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung "Gingivamodell"
 Der Lichtleiter übertrug das Licht der LED-Lichtquelle (A) auf das Gingivamodell, durch das ein elastisches Rohr (B) geführt wurde.
 Rot dargestellte Kreisläufe (1) und (2): Mit einer Schlauchpumpe (C) konnte mit der Frequenz 2 Hz das Testmedium (D) pulsierend durch den simulierten Pulpa- (1) und Gingivakreislauf (2) gepumpt werden. Auf die Oberfläche des Gingivamodellsockels konnte eine Abschirmung (3) aufgebracht werden. Das Messsignal wurde vom Detektor auf den Einkanal-Photoplethysmographen übertragen, dieser filterte und verstärkte es (ca. 12000-fach). Das aufbereitete Signal wurde über das Interface auf den PC übertragen und dort graphisch dargestellt und ausgewertet.

Folgende Parameter wurden in der Anordnung variiert und entsprechende Untersuchungen dazu durchgeführt:

1. Pulpakreislauf: Der Pulpakreislauf konnte durchblutet werden; (Details siehe 4.3.4).
2. Gingivakreislauf: Der Gingivakreislauf konnte durchblutet werden; (Details siehe 4.3.4).
3. Abschirmung: Auf den Gingivamodellsockel konnte eine Abschirmung aufgebracht werden; (Details siehe 4.3.2).

4.3.1 Lichtquelle für die Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell

Als Lichtquelle wurde die rote LED mit 625 nm des LED-Lichtmoduls verwendet und mit einer Stromstärke von 500 mA betrieben. Das Licht wurde über den Lichtleiter auf das Gingivamodell übertragen (siehe 4.1.1 und 4.1.1.2).

4.3.2 Entwicklung des Gingivamodells

Das Gingivamodell wurde auf Basis des Zahnmodells, durch Erweiterung um einen Gingiva-Blutkreislauf, entwickelt. Auf die Zahnkrone eines extrahierten, karies- und füllungs freien humanen Molaren wurde durch mehrmaliges Tauchen in ein Wachsbecken eine 1 mm dicke Wachsschicht aufgebracht. Apikal des Zahnhalses wurde das Wachs mit einem Skalpell wieder sorgfältig entfernt (Abb. 17A). Zirkulär und knapp unterhalb des Zahnhalses wurde der spätere Blutverlauf der Gingiva mit zwei Wachsdrähten (Länge: 5 cm, Durchmesser: 3,0 mm, Nr. 43140; Pluradent, Deutschland) modelliert (Abb. 17B). Mit Draht (Standard) wurde der vorbereitete Zahn in einer Silikonform (60x20x20 mm; Eigenbau, Abb. 17C) fixiert, in die nach Herstellerangaben verarbeitete Kaltpolymerisat (Palapress vario, farblos; Heraeus Kulzer, Deutschland) blasenfrei eingegossen wurde. Nach erfolgter Polymerisation wurde der Kunststoffblock mit einem Bandschleifer (Standard) auf die Größe von 25x12x12 mm reduziert und das gesamte Wachs ausgebrüht. Der koronale Kunststoffüberstand wurde mit einer Hartmetallfräse (Standard) entfernt und mesial und distal ein Schlauchadapter (Nr. 15674; Reichelt Chemietechnik, Deutschland) mit Sekundenkleber befestigt. Abschließend wurde mit einer Ständerbohrmaschine (Bohr-Fräsmaschine EBF 060, Baujahr 2004; Rotwerk, Deutschland) in der Mitte des Zahnes in pulpaaxialer Richtung ein Loch mit 2,5 mm Durchmesser gebohrt. Durch das pulpaaxiale Bohrloch wurde das elastische Rohr (Elastischer Silikonschlauch, BD Valu Set, 0.6x20 mm, Innendurchmesser: 1 mm, Außendurchmesser:

2 mm, Länge: 20 cm; Becton Dickinson GmbH, Deutschland) geführt. In Abb. 17D und 18A wurde das fertige Gingivamodell dargestellt.

Der Untersuchungsparameter "Abschirmung" konnte durch das Aufbringen einer selbstklebenden Alufolie (Scotch 1170, 15mm; 3M Deutschland GmbH) auf den Gingivamodellsockel variiert werden (Abb. 18B). Die Folie wurde entsprechend zugeschnitten und auf die Oberseite des Kunststoffsockels geklebt. Dadurch wurde der Gingivakreislauf vom Detektor abgeschirmt, da der Detektor lediglich an der Zahnkrone lokalisiert war.

Abb. 17:

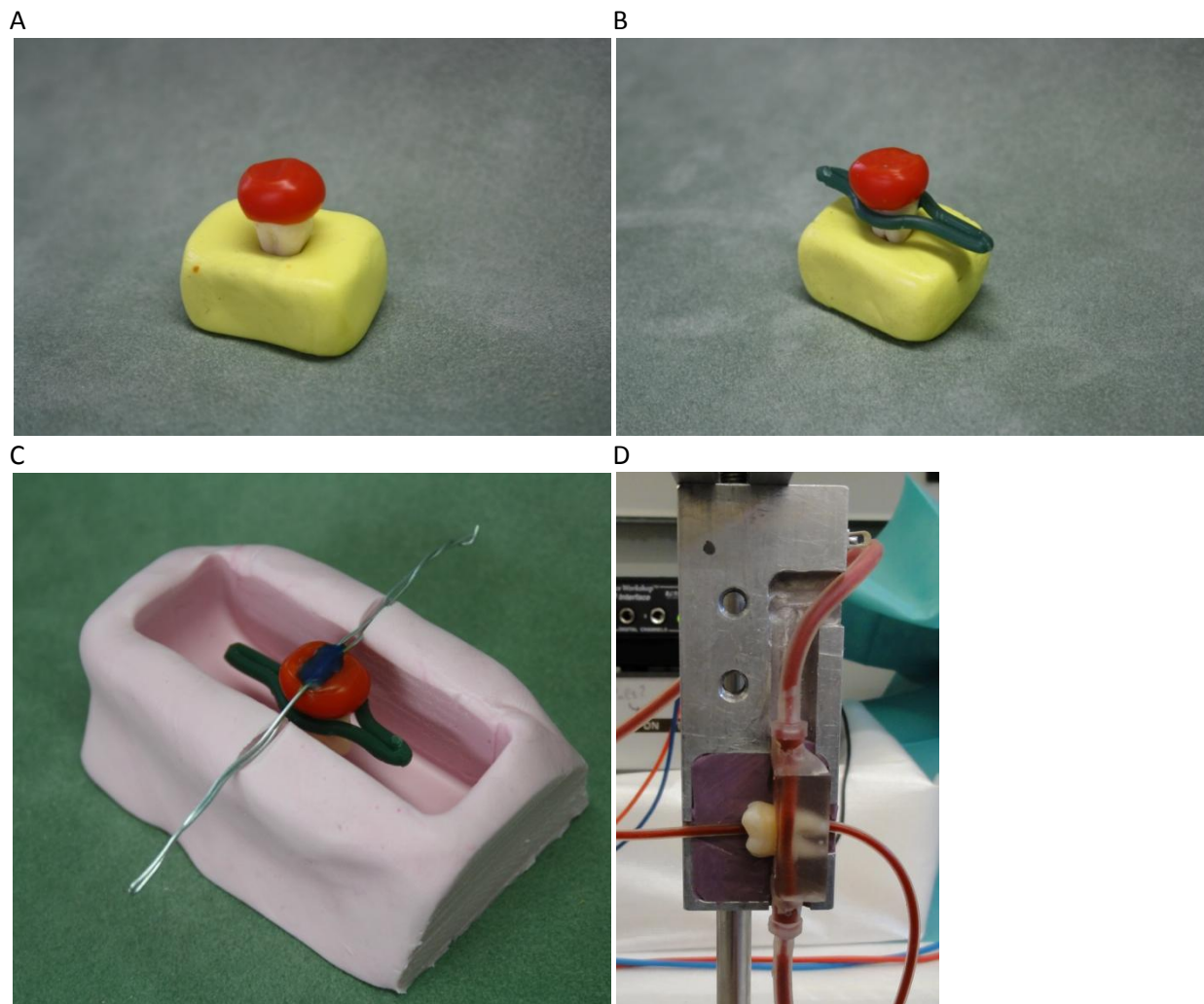


Abb. 17: Entwicklung des Gingivamodells

A: Molar des Gingivamodells mit 1 mm dicker Wachsschicht auf der Krone

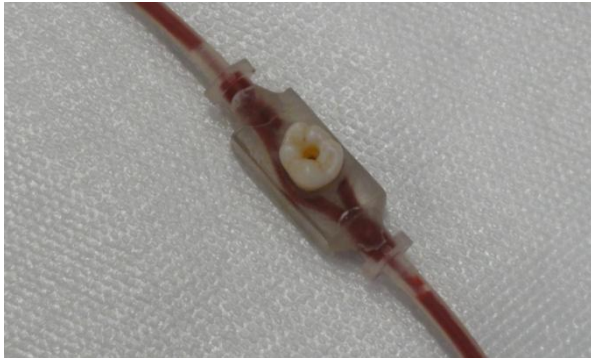
B: Mit zwei Wachsdrähten wurde der Gingiva-Blutverlauf auf der Wurzel des Molaren modelliert

C: Mit Draht wurde der Molar in der Silikonform befestigt

D: Fertiges Gingivamodell mit durchblutetem Pulpa- und Gingivakreislauf. Eingbracht in die Detektorklammer, die Lichtleiterklammer wurde zur besseren Übersicht entfernt.

Abb. 18:

A



B

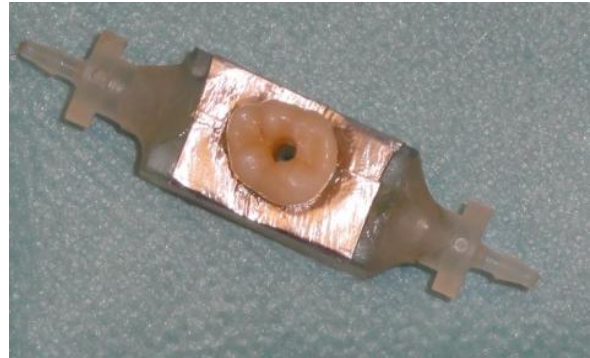


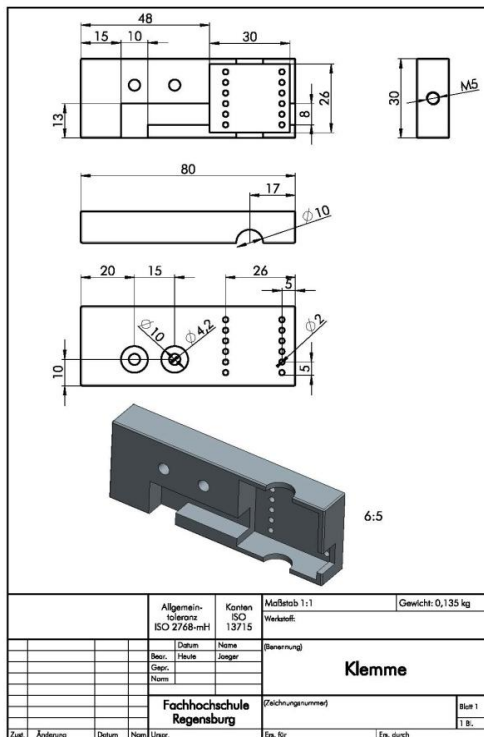
Abb. 18: A: Gingivamodell ohne Abschirmung mit durchblutetem Gingivakreislauf; Das Rohr durch das Bohrloch wurde zur besseren Übersicht hier entfernt
B: Gingivamodell mit auf den Gingivamodellsockel aufgebrachter Abschirmung aus Alufolie

4.3.3 Entwicklung und Bau einer Klammer zur Fixierung von Lichtleiter und Detektor am Gingivamodell

Für das Gingivamodell wurde entsprechend der technischen Zeichnung (Abb. 19A) eine spezielle Klammer aus Aluminium angefertigt (Abb. 19B). Die weiteren Schritte zur Fixierung des Gingivamodells und zur Adaption von Lichtleiter und Detektor am Zahn entsprachen dem Vorgehen in Kapitel 4.1.3.

Abb. 19:

A



B

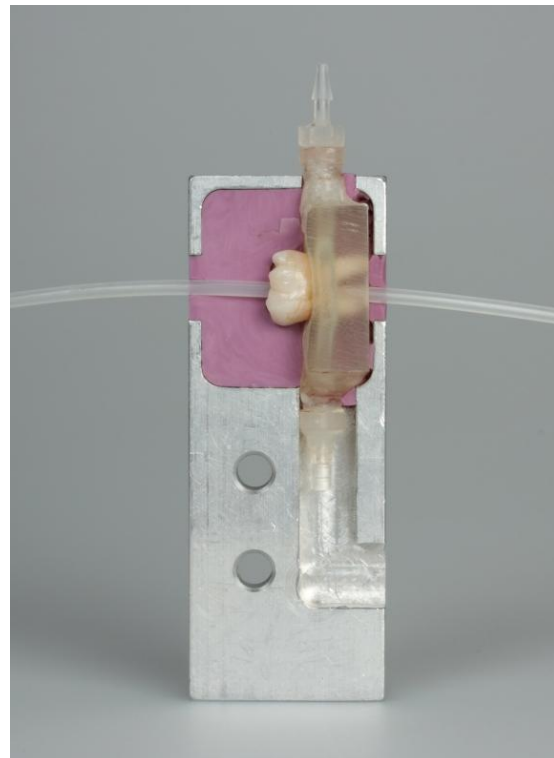


Abb. 19: A: Mit Creo Parametric (Version 1.0; PTC, USA) erstellte Technische Zeichnung einer Klammerhälfte.

B: Klammerhälfte mit eingepasstem Gingivamodell. Durch das pulpaaxiale Bohrloch wurde das Rohr des Pulpakreislaufs geführt.

4.3.4 Aufbau des Blutkreislaufs für Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell

Für die Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell wurden zwei Blutkreisläufe durch ein Schlauchsystem erzeugt (Abb. 20):

1. Pulpakreislauf
2. Gingivakreislauf

Die Kreisläufe bestanden jeweils aus einem mit dem Gingivamodell verbundenen Silikonschlauch (Innendurchmesser: 3 mm, Außendurchmesser: 4,5 mm, Länge 1 m; Standard) und konnten unabhängig voneinander durchblutet werden. Eine Schlauchpumpe (Eigenbau) mit zwei um 60° versetzten Rotoren erzeugte einen kontinuierlich pulsierenden Blutkreislauf mit einer Frequenz von 2 Hz durch jeden der Silikonschläuche. Bei gleichzeitiger Durchblutung der Kreisläufe sorgten die versetzte Rotoren für ein asynchrones Pulsieren des Blutes. Das Testmedium befand sich in einer Laborgewindeflasche (100 ml; Standard). Mit einer Halteklammer und einem Stativ wurde der

Silikonschlauch des Pulpakreislaufs zwischen Pumpe und Gingivamodell fixiert, damit Schwingungen des Schlauchsystems und somit eine Verfälschung der Messergebnisse verhindert werden konnten.

Abb. 20:

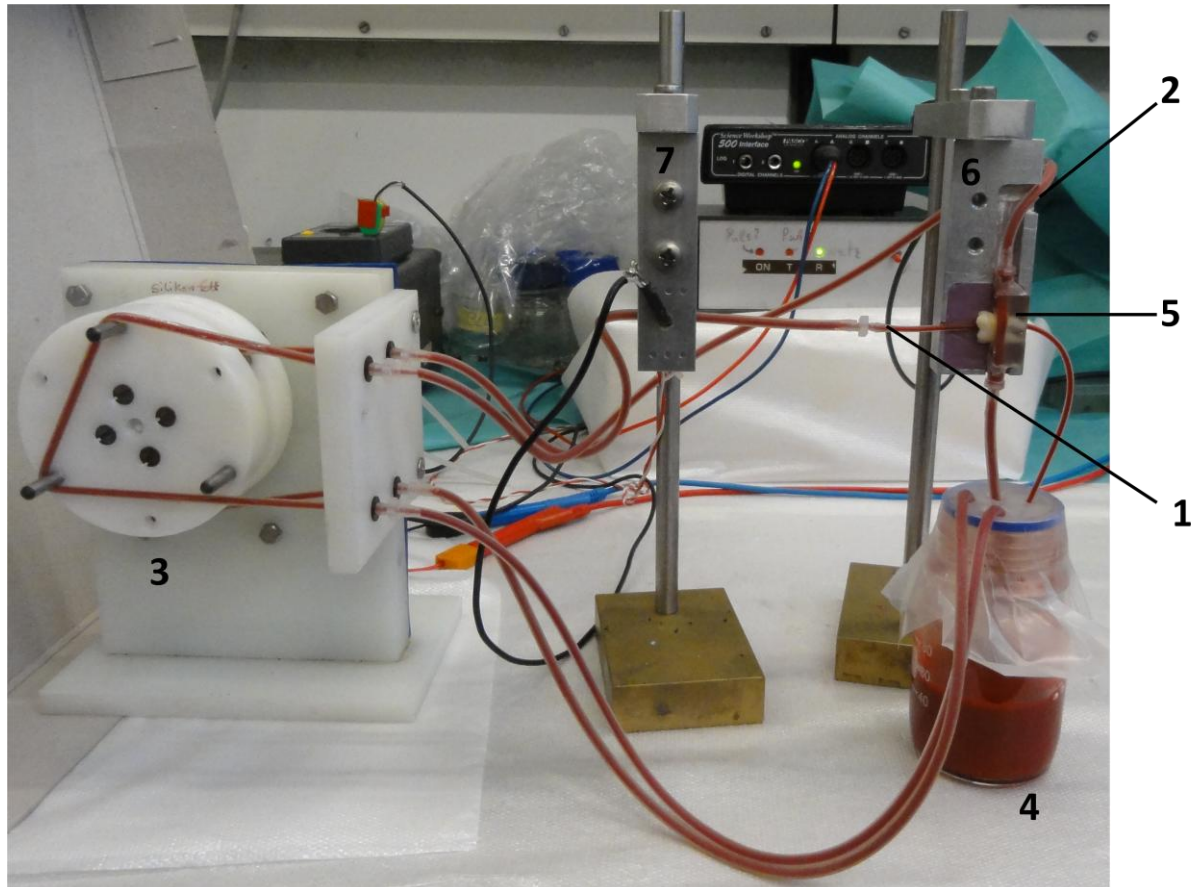


Abb. 20: (1) Pulpakreislauf; (2) Gingivakreislauf; (3) Schlauchpumpe mit zwei um 60° versetzten Rotoren; (4) Testmedium; (5) Gingivamodell mit elastischem Rohr durch das pulpaaxiale Bohrloch; (6) Detektorklammer mit eingepasstem Gingivamodell, Lichtleiterklammer wurde hier zur besseren Übersicht entfernt; (7) Halteklammer

4.3.5 Entwicklung der Apparatur zur Signalauswertung der Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell

Die Apparatur zur Signalauswertung der Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell entsprach der aus Kapitel 4.1.5.

4.3.6 Herstellung des Testmediums für Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell

Als Testmedium für die Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell wurde EK unverdünnt, hergestellt aus zwei Blutkonserven (Blutbank, Universitätsklinikum Regensburg, Deutschland), verwendet. Die Herstellung entsprach dem Vorgehen in Kapitel 4.1.6. Der Erythrozytengehalt der Blutkonserven wurde in Tab. 3 dargestellt.

Tab. 3:

Versuchs-ID	Mindesthaltbarkeitsdatum	Anzahl Erythrozyten / μl
3a, 3b, 3c	10.02.11	$5,33 \times 10^6$
4a, 4b, 4c	15.01.11	$5,57 \times 10^6$
Durchschnittlicher Erythrozytengehalt		$5,45 \times 10^6$

Tab. 3: Erythrozytengehalt der für die Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell verwendeten Blutkonserven

4.4 Untersuchungsgruppen am Gingivamodell

Die folgende Tabelle 4 zeigt die Untersuchungsgruppen der durchgeführten Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell. Jede Untersuchungsgruppe hatte eine bestimmte Ausprägung der Parameter "Pulpakreislauf", "Gingivakreislauf" und "Abschirmung" (Abb. 16). Bei den Untersuchungsgruppen mit der Versuchs-ID 3 und 4 wurde jeweils eine eigene Blutkonserve verwendet (Tab. 3). Folgende Parameter wurden bei allen Untersuchungsgruppen angewandt und nicht verändert:

- Lichtquelle: LED, 625 nm (rot), Stromstärke: 500 mA
- Rohr: Elastisch
- Frequenz: 2 Hz
- Testmedium: EK unverdünnt

Tab. 4:

Versuchs-ID	Pulpakreislauf	Gingivakreislauf	Abschirmung
3a	+	-	-
3b	-	+	-
3c	+	+	-
4a	+	-	+
4b	-	+	+
4c	+	+	+

Tab. 4: Untersuchungsgruppen der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Gingivamodell mit den Untersuchungsparametern "Pulpakreislauf", "Gingivakreislauf" und "Abschirmung".

"+": Kreislauf durchblutet, bzw. Abschirmung vorhanden

"-": Kreislauf nicht durchblutet, bzw. Abschirmung nicht vorhanden

Pro Untersuchungsgruppe wurden sechs Stichproben gemessen und das Messsignal 10 Sekunden lang aufgezeichnet. Nach jeder untersuchten Stichprobe wurden die Blutkreisläufe angehalten, entleert und mit 0,9 %iger NaCl-Lösung gespült. Der Lichtleiter wurde sowohl an der Gingivamodellklammer als auch am LED-Lichtmodul abgekoppelt und das Testmedium aufgeschüttelt. Danach wurde die nächste Stichprobe untersucht. Es wurden keine Messungen zur Detektion eines Referenzsignals mit dem Druckmesssensor durchgeführt.

4.5 Datenverarbeitung

Die gemessenen Spannungsdaten (in Volt) der Untersuchungen am Zahnmodell (Kapitel 4.2) und am Gingivamodell (Kapitel 4.4) wurden mit der Software Data Studio (Version 1.9.8; PASCO, USA) erfasst und als Messkurve graphisch dargestellt. Pro Untersuchungsgruppe mit der Versuchs-ID 1 und 2a (Zahnmodell) sowie 3 und 4 (Gingivamodell) wurden sechs unabhängige Stichproben, mit der Versuchs-ID 2b (Zahnmodell) zwei unabhängige Stichproben gemessen und das Messsignal jeweils 10 Sekunden lang aufgezeichnet. Für jede Stichprobe wurden die ersten 5 Sekunden wie folgt ausgewertet (Abb. 21). Bei Stichproben mit der Frequenz F1 wurde die zweite Amplitude einer jeden Sekunde vermessen, bei Stichproben mit der Frequenz F2 die dritte Amplitude. Die minimale Spannung (U_{\min}) und die maximale Spannung (U_{\max}) dieser Amplitude wurde mit der Software Data Studio ermittelt und damit die Amplitude $\Delta U = U_{\max} - U_{\min}$ berechnet. Die Ergebnisse für ΔU in Volt (Mediane mit 25-75 % Perzentilen) der einzelnen Untersuchungsgruppen wurden mit SPSS Statistics 19 (IBM, Deutschland) ermittelt und als Balkendiagramm in der vorliegenden Arbeit dargestellt. Die statistische Analyse erfolgte non-parametrisch mit dem Mann-Whitney-Test auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$.

Abb. 21:

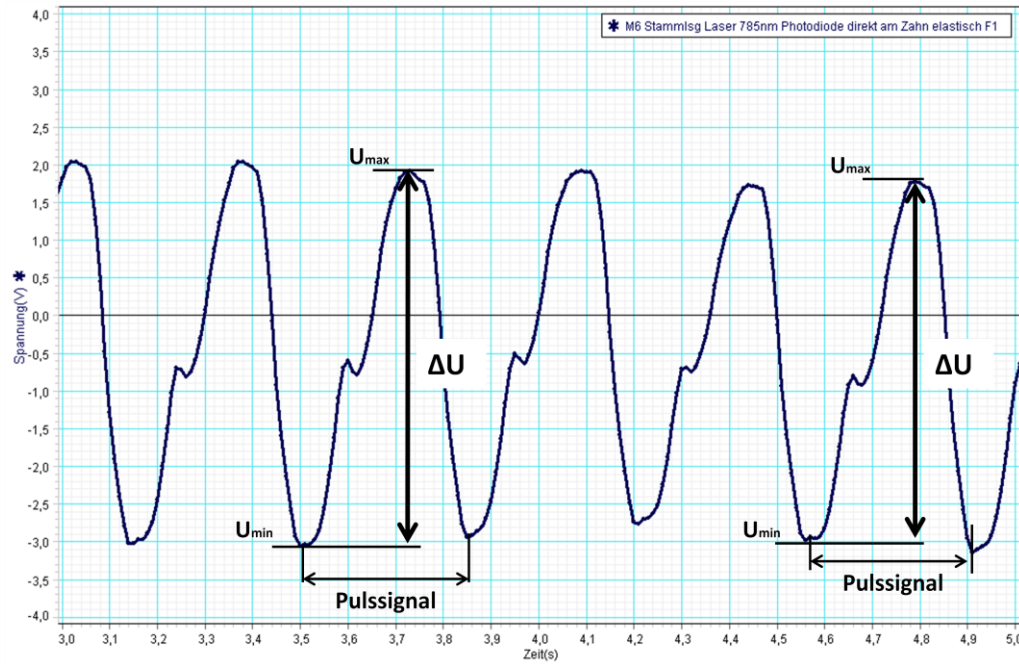


Abb. 21: Ausschnitt (2 Sekunden) einer exemplarischen Messkurve mit der Frequenz F1.
 x-Achse (Zeit in Sekunden): 3,0 s-5,0 s; y-Achse (Spannung in Volt): -4,0 V-(+4,0 V)
 Das zweite vollständige Pulssignal einer jeden Sekunde wurde vermessen.

4.6 Transmissionsmessungen von Dentin am FTIR-Spektrometer

Die Messungen der Transmission von Dentinscheiben am Fourier-Transformations-Infrarot- (FTIR-) Spektrometer (Vertex 80v; Bruker Optik GmbH, Deutschland) wurde in Zusammenarbeit mit dem Terahertz Zentrum an der Fakultät für Physik der Universität Regensburg unter der Leitung von Prof. Dr. Sergey Ganichev durchgeführt. Ziel dieser Messungen war es, Transmissionsspektren für verschiedene, feucht gehaltene Dentinscheiben im Wellenlängenbereich von 0,8 μm bis 3 μm zu erhalten. Dabei wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Dentinscheiben hergestellt, diese durch das Terahertz Zentrum vermessen und die Ergebnisse (Kapitel 5.3) im Rahmen einer Bachelorarbeit und unserer Studie [28] bereits publiziert.

4.6.1 Herstellung der Dentinscheiben

Es wurden humane, karies- und füllungsfreie Zähne verwendet, die nach der Extraktion in 0,5 %iger Chloraminlösung gelagert ins Labor gebracht wurden. Unmittelbar nach Eintreffen der Zähne im Labor wurden diese vorsichtig mit einer Universalkürette (4R/4L; Hu Friedy, Niederlande) und einer Pinzette von Geweberesten befreit und im Folgenden für maximal 4 Wochen in physiologischer Kochsalzlösung gelagert. Die Zähne wurden mit einer Innenlochsäge (Mikrotom 1600, Sägeblattstärke 400 μm ; Fa. Leica, Deutschland) gesägt. Dazu wurden sie auf dem Sägetisch mit Paladur Kunststoff (Heraeus Kulzer, Deutschland) befestigt und so eingebettet, dass der Zahn waagrecht und mit der mesialen Zahnseite nach oben zu liegen kam. Um eine Dentinscheibe herzustellen, wurde mit dem ersten Sägeschnitt die Schmelzschicht entfernt, so dass eine Dentinfläche von mindestens 5 mm Durchmesser frei lag. Insgesamt wurden aus 8 Zähnen 14 Dentinscheiben präpariert (Tab. 5).

Jeder Probe wurde ein entsprechender Code, bestehend aus 4 Ziffern zugeteilt um sie später wieder eindeutig zuordnen zu können. In Abb. 22 ist eine solche Dentinscheibe mit ihrem entsprechenden Code abgebildet. Die erste Ziffer war eine fortlaufende Nummer der präparierten Zähne. Die Ziffer 005 stand somit für den Zahn Nummer 5. Die zweite Ziffer gab die Schnittlage der Probe an. Hier wurden Zahlen von 1-8 vergeben, wobei Schnitte mesial der Pulpakammer mit 1-4 und Schnitte distal der Pulpakammer mit 5-8 gekennzeichnet wurden. Mit 4 und 5 gekennzeichnete Schnitte waren somit am nächsten zur Pulpa, mit 1 und 8 gekennzeichnete am weitesten davon entfernt. Die dritte Ziffer beschrieb, ob der Zahn aus dem Oberkiefer (1) oder Unterkiefer (2) stammte und um welche Zahnmorphologie es sich handelte, wobei ein Frontzahn mit (1), ein Prämolare mit (2) und ein Molar mit (3) gekennzeichnet wurde. Die vierte Ziffer gab die Dicke der Dentinscheibe in μm an. Es wurden Proben mit 200 μm , 400 μm , 600 μm und 800 μm mit einer Toleranz von $\pm 10 \mu\text{m}$ untersucht. Die

Dicke wurde mit einer Mikrometerschraube (Nr. 293-521-30; Mitutoyo, Japan) überprüft. Die Präparate wurden in physiologischer Kochsalzlösung bei 4 °C aufbewahrt und die Messungen wurden an feuchten Proben durchgeführt. Somit stand der Code 005-4-23-400 für den Zahn Nummer 5, mit einer mesialen Schnittlage knapp vor der Pulpa, es handelte sich um einen Molaren aus dem Unterkiefer und einer Scheibendicke von 400 µm (Abb. 22, Tab. 5).

Tab. 5:

Zahnnummer	Code der ersten Dentinscheibe	Code der zweiten Dentinscheibe	Code der dritten Dentinscheibe
2	002-4-13-200	002-5-13-400	
3	003-5-23-200	003-6-23-200	003-7-23-200
4	004-1-23-600		
5	005-4-23-400	005-6-23-800	
6	006-4-23-200		
7	007-1-23-800		
8	008-1-13-600	008-4-13-200	008-5-13-400
9	009-5-23-400		

Tab. 5: Übersicht der 14 Dentinscheiben mit ihrem jeweiligen Code aus dem Zahnnummer, Schnittlage, Zahnmorphologie und Scheibendicke ersichtlich ist. Innerhalb einer Zeile befinden sich Dentinscheiben eines Zahnes.

4.6.2 Herstellung einer individuellen Halterung

Um die Dentinscheiben reproduzierbar im FTIR-Spektrometer zu platzieren wurde eine individuell an die Dentinscheibe angepasste Halterung hergestellt (Abb. 22). Dafür wurden Objektträger aus Glas (76x26 mm, Nr. 631-0906; VWR, Deutschland) verwendet. In der Feinmechanischen Werkstatt (Fakultät für Chemie, Universität Regensburg, Deutschland) wurde mit einer Wasserstrahlschneidemaschine (Hydro Jet Eco 0515; Fa. Knuth, Deutschland) ein Loch mit einem Durchmesser von 5 mm mittig in die Objektträger geschnitten. Dieses Loch diente als Messfenster, damit bei den Transmissionsmessungen nur das Dentin und nicht das Glas durchstrahlt wurde. Pro Dentinscheibe wurden 2 solcher Träger verwendet.

Die Dentinscheibe wurde mit der zu messenden Dentinfläche auf dem Messfenster zentriert und provisorisch mit doppelseitigem Klebeband (Standard) auf dem Objektträger 1 (Abb. 22) fixiert. Mit zahnärztlichem Komposit (Tetric Evo Ceram; Ivoclar, Deutschland) wurde die Dentinscheibe definitiv auf dem Messfenster fixiert. Es wurde nach dem Prinzip der Befestigung von Keramikrestorationen in der zahnmedizinischen Routine verfahren. Dazu wurden an der Krone zwei und an der Wurzel ein Klebepunkt bestimmt. Der Objektträger 2 (Abb. 22) wurde an den Klebepunkten mit 5 %iger Flusssäure (IPS Keramik Ätzelgel; Ivoclar, Deutschland) für 1 Minute angeätzt. Danach wurde das Gel

mit Wasser abgespült, der Objektträger luftgetrocknet und ein Silan (Monobond S; Ivoclar, Deutschland) bei einer Einwirkzeit von 1 Minute aufgetragen. Es folgte ein Adhäsiv (Excite; Ivoclar, Deutschland) welches aufgetragen und anschließend verblasen wurde worauf die Kompositschicht folgte. Jetzt wurde der Objektträger 1 (Abb. 22) mit dem mit Klebeband fixierten Zahn bündig auf den präparierten Objektträger 2 (Abb. 22) gesetzt und vorsichtig aufgedrückt, so dass beide Objektträger direkt der Dentinscheibe auflagen und die Messfenster exakt übereinander zu liegen kamen. Danach wurde mit einer Polymerisationslampe (Elipar Highlight; ESPE, Deutschland) für 40 Sek. lichtgehärtet. Da Objektträger 1 (Abb. 22) nicht vorbehandelt war ließ sich dieser nach der Polymerisation wieder entfernen. Jetzt wurde das Klebeband von Träger 1 (Abb. 22) entfernt. Über 4 Klebepunkte an den Objektträgerecken, die wie oben beschrieben präpariert wurden, wurden nun Objektträger 1 und 2 (Abb. 22) mit Hilfe des Komposites miteinander verklebt und für 40 Sek. lichtgehärtet. Die fertigen Präparate wurden in physiologischer Kochsalzlösung bei 4 °C gelagert.

Abb. 22:

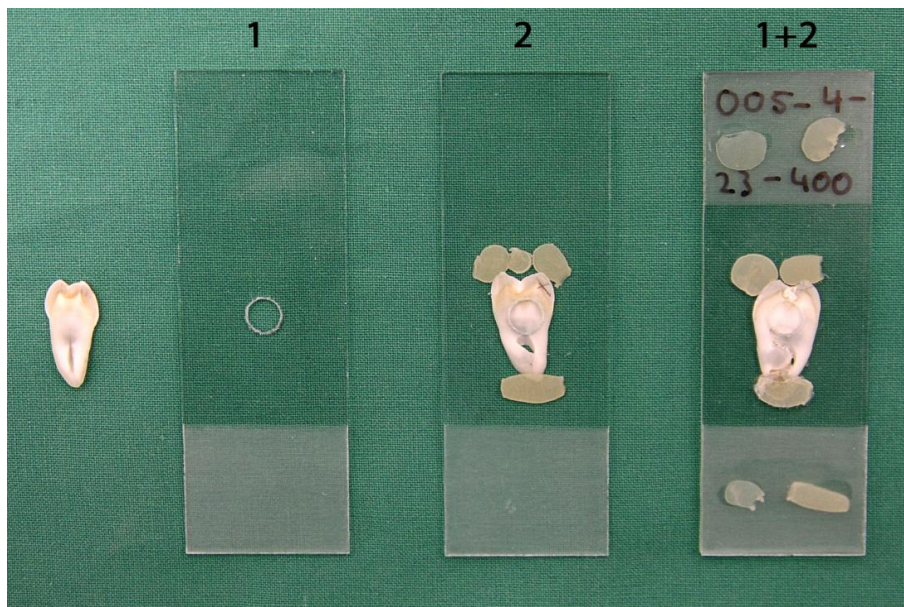


Abb. 22: Integration der Dentinscheibe in die individuelle Halterung (1+2), bestehend aus Objektträger 1 auf dem die Dentinscheibe provisorisch befestigt wurde und dem für Komposit vorbehandelten Objektträger 2.

4.6.3 Transmissionsmessungen von Dentinscheiben

Zur Validierung der Messsignale wurde vor den Transmissionsmessungen von Dentinscheiben am FTIR-Spektrometer eine Leermessung ohne Präparat durchgeführt. Für die Transmissionsmessungen wurden die Präparate auf einer Blende mit einem Durchmesser von 5 mm so fixiert, dass das Messfenster genau über der Blendenöffnung lag. Anschließend wurde die Blende in die dafür

vorgesehene Halterung im Spektroskop geführt. Bei allen Messungen befanden sich die Präparate vor der Blende bei einem Strahlengang von pulpanah zu pulpafern (Abb. 23A und B). Mit der Spektroskopie-Software OPUS (Version 7.0, Bruker Optik GmbH, Deutschland) wurden die Spektren aufgezeichnet und gegen die Leermessung korrigiert. Die entstandenen Rohdaten waren somit unabhängig von der Messapparatur. Für jedes in Tab. 5 dargestellte Präparat wurde ein Transmissionsspektrum im nahen Infrarotbereich von 0,8 μm bis 3 μm aufgezeichnet.

Abb. 23:

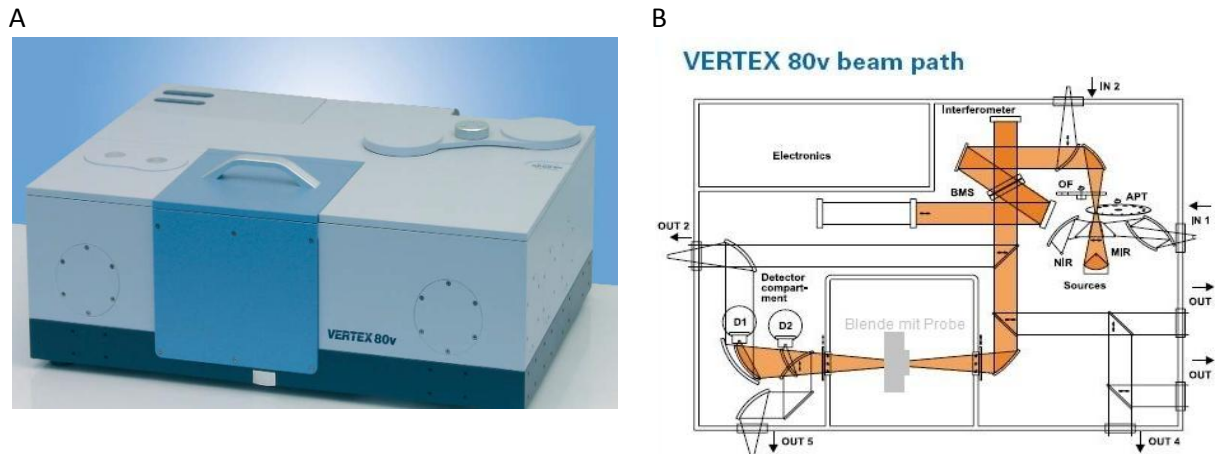


Abb. 23: A: FTIR Spektrometer Vertex 80v (Quelle: Produktkatalog 2012, Bruker Optik GmbH, Deutschland)
B: Schematischer Strahlengang im Spektrometer mit auf der Blende befestigten Dentinscheibe (Modifiziert, Produktkatalog 2009, Bruker Optik GmbH)

4.6.4 Datenverarbeitung

Die mit OPUS aufgezeichneten Rohdaten wurden mit dem Analyseprogramm Origin (Version 6.1.; OriginLab Corporation, USA) weiter verarbeitet. Zunächst wurden aus den Daten Wellenlänge-Transmissions-Graphen erzeugt und diese mit der Funktion "Adjacent Averaging" (Wert 1000) von Origin geglättet. Für jede Dicke wurde bei jeder Wellenlänge der Median sowie das Minimum und Maximum (SPSS Statistics 19; IBM, Deutschland) bestimmt. Diese zusammengefassten Daten wurden wieder in Origin importiert und als Graphen in der vorliegenden Arbeit dargestellt. Dargestellt wurde die Wellenlänge λ (μm) gegen die absolute Transmission $T=I/I_0$ (a.u.).

5. Ergebnisse

5.1 Ergebnisse der Untersuchungen am Zahnmodell

Die Ergebnisse der Untersuchungen am Zahnmodell mit dem Lasermodul, flexiblem und starrem Rohr, den beiden Frequenzen F1 und F2, sowie den drei Testmedien (Versuchs-ID 1) wurden in Abb. 24 dargestellt. Für die Untersuchungsgruppen mit dem Parameter "Rohr elastisch" (Versuchs-ID 1a) lag ΔU für EK unverdünnt zwischen 5,3 Volt (bei F1) und 2,3 Volt (bei F2). ΔU war bei allen drei Testmedien (EK, EK 1:10 und EK 1:100) für die Frequenz F1 signifikant höher als für F2 (Tab. 6). Mit zunehmender Verdünnung zeigte sich eine signifikante Abnahme von ΔU sowohl für F1 als auch für F2. Für die stärkste Verdünnung, EK 1:100, konnte bei der Frequenz F2 kein Pulssignal detektiert werden.

Bei den Untersuchungsgruppen mit dem Parameter "Rohr starr" (Versuchs-ID 1b) konnte für das Testmedium EK unverdünnt jeweils das größte ΔU mit einem Wert von 2,2 Volt für F1 und 1,6 Volt für F2 gemessen werden. Für EK 1:100 bei F1 sowie EK 1:10 und EK 1:100 bei F2 konnte kein Pulssignal detektiert werden. Mit Ausnahme von EK 1:100 bei F2 zeigte sich auch hier eine signifikante ΔU -Abnahme von F1 zu F2 sowie mit zunehmender Verdünnung der Testmedien (Tab. 6). Der direkte Vergleich zwischen "Rohr elastisch" und "Rohr starr" zeigte bei allen entsprechenden Untersuchungsgruppen (mit Ausnahme von EK 1:100 bei "Rohr starr") eine signifikante ΔU -Abnahme von elastisch zu starr.

Abb. 24:

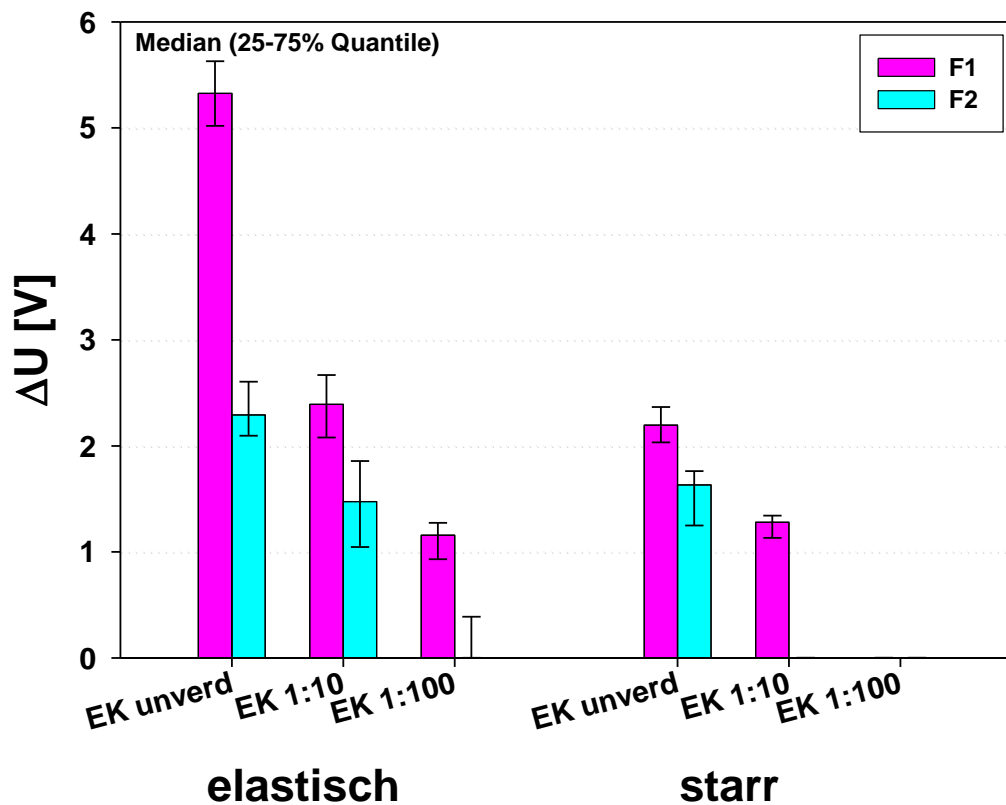


Abb. 24: Darstellung von ΔU in Volt als Mediane mit 25-75 % Perzentilen für die Untersuchungsgruppen mit der Versuchs-ID 1a und 1b (siehe Tab. 2) für die Frequenzen F1 (3 Hz) und F2 (5 Hz) bei einer Wellenlänge von 785 nm.

Tab. 6:

A

Frequenz	Rohr	EK vs. EK 1:10	EK vs. EK 1:100	EK 1:10 vs. EK 1:100
F1	elastisch	0,002	0,002	0,002
	starr	0,002	0,002	0,002
F2	elastisch	0,004	0,002	0,002
	starr	0,002	0,002	n.s. ¹

B

Frequenz	Verdünnung	elastisch vs. starr
F1	EK	0,002
	EK 1:10	0,002
	EK 1:100	0,002
F2	EK	0,002
	EK 1:10	0,002
	EK 1:100	n.s. ¹

C

Rohr	Verdünnung	F1 vs. F2
elastisch	EK	0,002
	EK 1:10	0,004
	EK 1:100	0,002
starr	EK	0,002
	EK 1:10	0,002
	EK 1:100	n.s. ¹

Tab. 6: p-Werte der statistischen Analyse der Untersuchungen mit dem Lasermodul (Versuchs-ID 1a und 1b)

A: Verdünnungen (EK, EK 1:10, EK 1:100) gegeneinander

B: Rohr elastisch gegen Rohr starr

C: Frequenz F1 gegen F2

¹) n.s.: nicht signifikant ($p > 0,05$)

Die Ergebnisse der Untersuchungen am Zahnmodell mit dem LED-Lichtmodul, elastischem Rohr, der Frequenz F1 und dem Testmedium EK (Versuchs-ID 2) wurden in Abb. 25 dargestellt. Für die Wellenlänge von 625 nm (rot) ergab sich das größte ΔU mit einem Wert von 0,135 Volt. Das ΔU jeder anderen Wellenlänge war bei gleichem DC-Wert signifikant geringer (Tab. 7). Der größte Unterschied wurde von 625 nm (rot) zu 590 nm (gelb) und zu 940 nm (IR) gemessen. Die Werte von 590 nm (gelb) und 940 nm (IR) waren auf ca. ein Drittel reduziert. Dieses Ergebnis zeigte auch die Untersuchung zwischen den Wellenlängen 625 nm (rot) und 940 nm (IR) bei einem DC-Wert von 41 mV. Auch hier ergab sich ein maximales ΔU bei 625 nm (rot) und eine deutliche ΔU -Abnahme zu 940 nm (IR) auf weniger als ein Drittel.

Abb. 25:

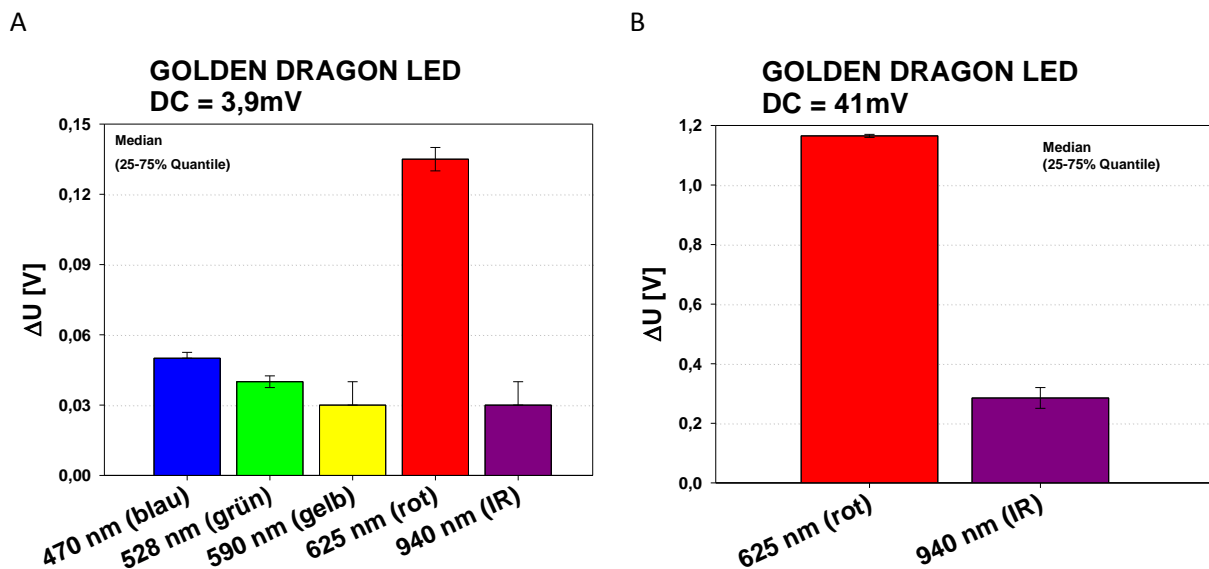


Abb. 25: Darstellung von ΔU in Volt als Mediane mit 25-75 % Perzentilen für die Untersuchungsgruppen mit der Versuchs-ID 2a und 2b (siehe Tab. 2) für die verschiedenen Wellenlängen.

A: Darstellung von ΔU für fünf Wellenlängen bei einem DC-Wert von 3,9 mV

B: Darstellung von ΔU für zwei Wellenlängen bei einem DC-Wert von 41 mV

Tab. 7:

	blau	grün	gelb	rot	IR	DC-Wert 3,9 mV
blau		0,009	0,002	0,002	0,002	
grün	-		n.s. ¹	0,002	n.s. ¹	
gelb	-	-		0,002	n.s. ¹	
rot	-	-	-		0,002	
IR	-	-	-	n.s. ¹		
DC-Wert 41 mV						

Tab. 7: p-Werte der statistischen Analyse der Untersuchungen mit dem LED-Lichtmodul (Versuchs-ID 2a und 2b); blau, grün, gelb, rot, IR gegeneinander bei dem DC-Wert von 3,9 mV und rot gegen IR bei 41 mV. ¹) n.s.: nicht signifikant ($p > 0,05$), -: Kombinationen nicht getestet.

5.2 Ergebnisse der Untersuchungen am Gingivamodell

Die Ergebnisse der Untersuchungen am Gingivamodell mit der Versuchs-ID 3 und 4 wurden in Abb. 26 dargestellt. Bei allen 6 Untersuchungsgruppen sowohl mit Abschirmung zum Detektor durch Alufolie als auch ohne zeigte sich ein mit der Frequenz von 2 Hz pulsierendes Messsignal, wobei ΔU bei den Messungen mit Abschirmung signifikant kleiner war als bei den entsprechenden Messungen ohne Abschirmung (Tab. 8). Wie bei den Untersuchungen am Zahnmodell (Kapitel 4.2) mit $\lambda = 625 \text{ nm}$ ergab sich auch für den durchbluteten Zahn des Gingivamodells ein eindeutig messbares ΔU . Das ΔU der durchbluteten Gingiva war dagegen signifikant kleiner. Sobald beide Kreisläufe gemeinsam durchblutet wurden nahm ΔU im Vergleich zur alleinigen Pulpadurchblutung sowohl mit als auch ohne Abschirmung relativ zu.

Abb. 26:

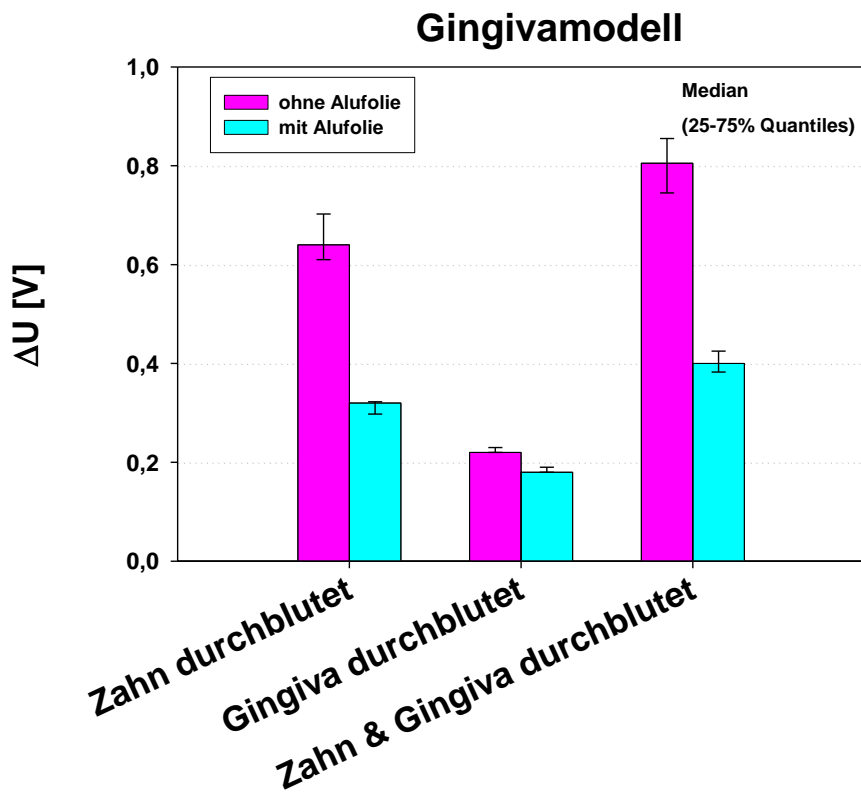


Abb. 26: Ergebnis von ΔU für die Untersuchungen "Zahn durchblutet", "Gingiva durchblutet", "Zahn und Gingiva durchblutet", jeweils mit und ohne Abschirmung durch Alufolie (Versuchs-ID 3 und 4). Dargestellt wurde ΔU als Mediane mit 25-75 % Perzentilen.

Tab. 8:

	Zahn durchblutet	Gingiva durchblutet	Zahn + Gingiva durchblutet	
Zahn durchblutet	0,002	0,002	0,015	Ohne Alufolie
Gingiva durchblutet	0,002	0,002	0,002	
Zahn + Gingiva durchblutet	0,002	-	0,002	
	Mit Alufolie			Mit Alufolie gegen ohne Alufolie

Tab. 8: p-Werte der statistischen Analyse der Untersuchungen (Zahn durchblutet, Gingiva durchblutet, Zahn + Gingiva durchblutet) gegeneinander, jeweils mit und ohne Alufolie.
-: Kombination nicht statistisch ausgewertet

5.3 Ergebnisse der Transmissionsmessungen für Dentinscheiben

Es wird nochmals darauf hingewiesen, dass die folgenden Ergebnisse in der Publikation Hirmer et al. [28] verwendet und dort insbesondere in Fig. 4 dargestellt wurden. Die Transmissionsmessungen der Dentinscheiben am FTIR-Spektrometer ergaben für alle Proben unabhängig von der Dicke der Dentinscheiben dieselben spektralen Charakteristika (Abb. 27A). Die Spektren zeigten ein

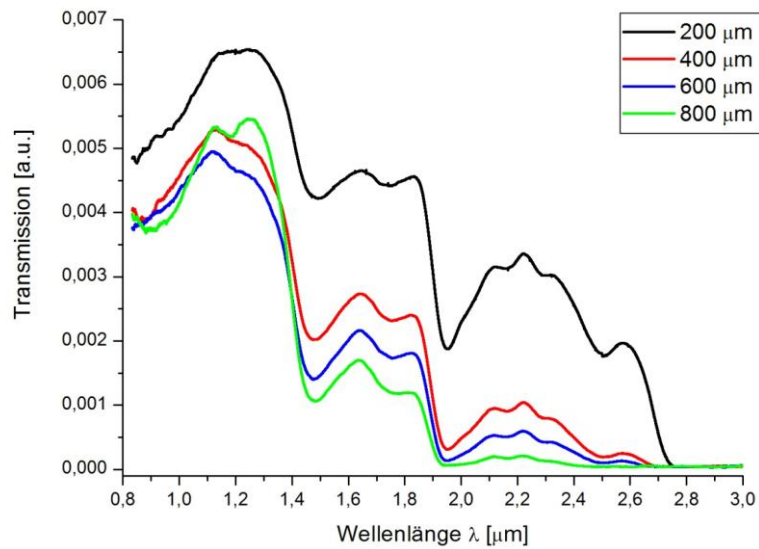
Transmissionsmaximum im Bereich von 1,12 μm bis 1,24 μm , sowie ein lokales Minimum im Bereich von 1,47 μm bis 1,48 μm . Mit zunehmender Dentindicke nahm die Transmission kontinuierlich ab und bei Wellenlängen größer als $\lambda=2,74 \mu\text{m}$ war die Transmission für alle Dentindicken Null. Im Bereich zwischen 0,9 μm und 1,33 μm zeigte sich bei allen Dicken, dass die Transmissionswerte größer waren als der jeweilige Wert bei 0,9 μm . Bei Wellenlängen größer als 1,33 μm waren die Transmissionswerte in jedem Fall geringer. Dieser Bereich stellte sich als optimal für Transmissionsmessungen am Dentin heraus. Die vergleichsweise hohe Transmission der 800 μm dicken Scheiben im Bereich von 0,8 μm bis 1,5 μm war auf die hohe Transmission einer einzelnen Probe (005-6-23-800) zurück zu führen (siehe Maximum in Abb. 27E).

In Abb. 27B-E wurden die Transmissionsspektren nochmals als Median, sowie zur Darstellung der Transmissionsvariabilität innerhalb einer Dicke als Minima und Maxima dargestellt. Die höhere Variabilität der Transmission bei 200 μm und 400 μm Dicke (Abb. 27B und C) im Vergleich zur geringen Variabilität bei 600 μm (Abb. 27D) war auf den größeren Probenumfang bei 200 μm und 400 μm zurück zu führen (siehe Tab. 5).

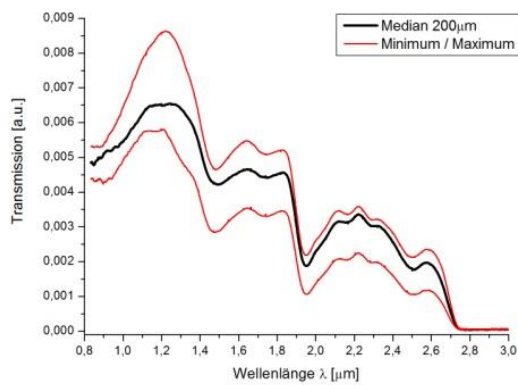
Die absolute Transmission konnte durch folgende Umrechnung auch in Prozent angegeben werden: $T(\%) = I/I_0 \cdot 100 = T(\text{a.u.}) \cdot 100$. Bei der Darstellung der absoluten Transmission in Prozent zeigte sich, dass die eingestrahlte Lichtintensität nach dem Durchtritt durch die Dentinscheibe stark absank. Selbst bei einer dünnen Scheibe mit 200 μm Dicke lag die Transmission bei Werten unter 1 %.

Besonders betrachtet wurde der Zahn 003, bei dem drei Scheiben gleicher Dicke (200 μm), jedoch mit zunehmender Entfernung zur Pulpa messbar waren. Es zeigte sich ein Trend, dass bei einer pulpanahen Scheibe im Bereich von 0,8 μm bis 1,83 μm eine geringere Transmission vorlag als bei einer pulpafernen (Abb. 28).

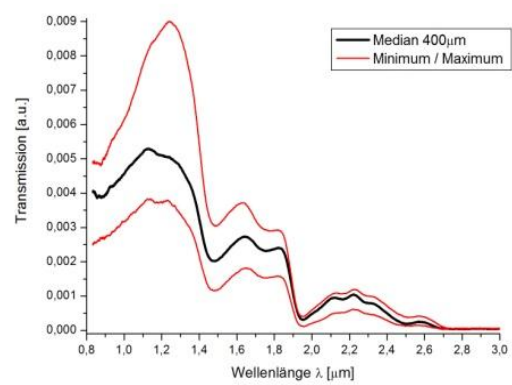
Abb. 27:
A



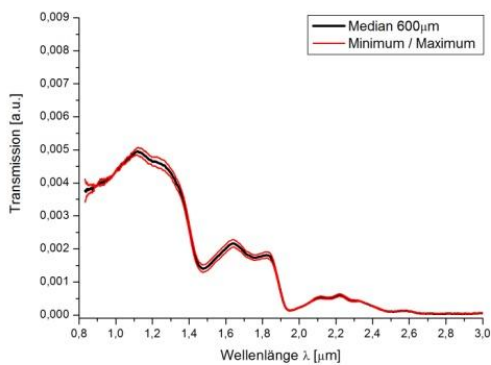
B



C



D



E

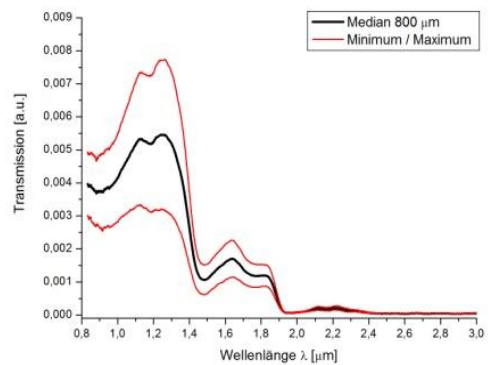


Abb. 27: A: Mediane Transmissionsspektren der Dentinscheiben mit 200 μm , 400 μm , 600 μm , 800 μm Dicke. Wegen der Übersichtlichkeit wurde hier auf die Darstellung der Transmissionsvariabilität verzichtet.
B-E: Mediane Transmissionsspektren der Abb. 27A mit den zugehörigen Minima und Maxima.

Abb. 28:

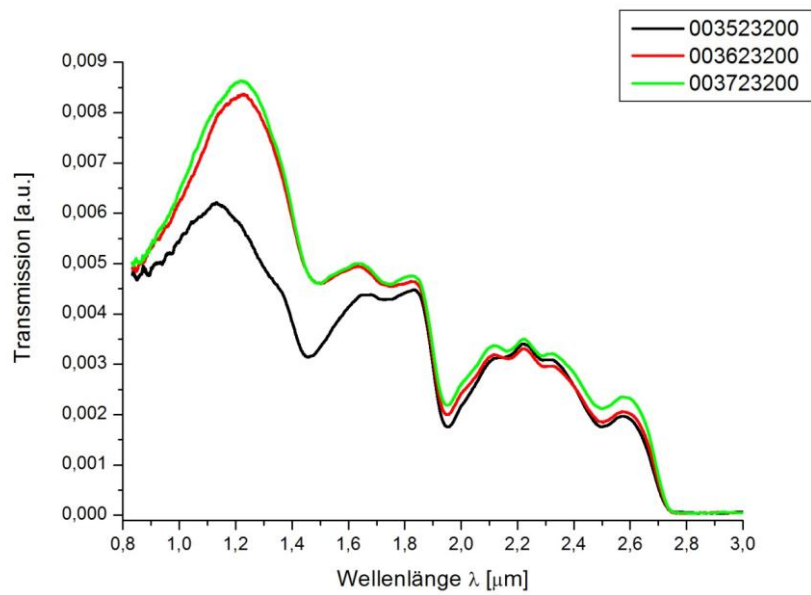


Abb. 28: Transmissionsspektren für drei Dentinscheiben aus dem selben Zahn 003 mit jeweils 200 μm Dicke und unterschiedlicher Lage zur Pulpa.
Schwarz: pulpanah
Rot: pulpafern
Grün: am Weitesten von der Pulpa entfernt

6. Diskussion

6.1 Diskussion der Methode

6.1.1 Vitalitätsbestimmung der Zahnpulpa

Im klinischen Alltag wird die Vitalität der Zahnpulpa durch Reizung der pulpalen Nervenfasern mittels Kälte, Wärme, elektrischem Strom und in seltenen Fällen durch die Probetrepanation nur indirekt bestimmt. Soweit der Patient dazu in der Lage ist, muss er die Reizantwort subjektiv bewerten und dem Behandler mitteilen. Besonders bei Kindern, älteren, kranken oder behinderten Menschen ist sowohl die Bewertung als auch die Mitteilung als unsicher einzustufen, während bei Patienten der Intensivmedizin oder in Vollnarkose die diagnostischen Möglichkeiten derzeit sogar ganz ausbleiben. Eine besondere Gefahr der gängigen Verfahren besteht bei der Untersuchung von Patienten mit Zahntraumata [3]. Durch eine vorübergehende Unterbrechung der Reizleitung, beispielsweise durch eine reversible Quetschung der Pulpanerven, wird eine negative Reizantwort gegeben, obwohl der Zahn noch durchblutet ist und somit die Möglichkeit der Heilung und Regeneration besteht [10].

Ein allgemein in der Medizin anerkannter Indikator für die Vitalität von Geweben ist die Durchblutung [3], die mit Hilfe einer nicht invasiven und objektiven Methode wie der Photoplethysmographie relativ einfach nachgewiesen werden kann. Die einfache Übertragung dieser Technik auf die Vitalitätsprüfung am Zahn ist jedoch aufgrund der geringen Pulpagröße, der Ummantelung der Pulpa mit den Zahnhartsubstanzen und deren starke Lichtstreuung nicht so einfach möglich. Desweiteren spielt der mögliche Einfluss der umliegenden parodontalen Gewebe auf die sensiblen Messungen eine entscheidende Rolle. Obwohl sich die Vitalitätsprüfung am Zahn mittels PPG noch im experimentellen Stadium befindet und noch kein praxistaugliches Gerät auf dem Markt ist, konnte mit der vorliegenden Arbeit, wie auch schon in einigen anderen Arbeiten [14;31;46;49;59], das vielversprechende Potential dieser Methode am Zahn gezeigt werden.

6.1.2 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen mit Lichtleitern

Im Hinblick auf ein wichtiges Ziel dieser Arbeit, eine Signalübertragung mittels Lichtleitern in die Versuchsanordnung zu integrieren, wurden mit einer SI-Photodiode und einem Messgerät Voruntersuchungen zur Messung der Lichtleistung durchgeführt. Es zeigte sich, dass die kommerziell als Set erhältlichen Komponenten bestehend aus LED und LWL (IF-E92A 430 nm, IF-E92B 470 nm, IF-E93 530 nm, IF-E97 660 nm, IF-E91D 870 nm, IF-E91A 950 nm; Industrial Fiber Optics, USA) [49] für

solch anspruchsvolle Anwendungen nicht leistungsstark genug waren. Wie in Kapitel 2.5.1 beschrieben, ist vor allem die optische Einkopplung in einen LWL sehr verlustreich, wohingegen die optische Dämpfung des LWL nur einen geringen Anteil hat. Es wird von Koppelverlusten von über 90 % berichtet [34]. Eigene Messungen mit dem Lasermodule ergaben Verluste von über 50 % des emittierten Lichts nach Durchlaufen des LWL (Daten nicht gezeigt). Um die Koppelverluste des LWL möglichst zu kompensieren, wurden in der vorliegenden Arbeit leistungsstarke Lichtquellen verwendet (Kapitel 4.1.1). Alternativ wäre ein kompliziertes und teures Koppelungsverfahren mittels Linsensystemen anzuwenden. Bei allen Untersuchungen wurde das Licht der Lichtquelle über einen LWL auf das Zahn- oder Gingivamodell übertragen und das modulierte Signal auf der Rückseite des Zahnes mit dem Detektor direkt abgegriffen (indirekt-direkt). Die zusätzliche Signalübertragung vom Zahn auf den Detektor war mittels LWL jedoch nicht möglich (indirekt-indirekt). Die starke Streuung des Lichts beim Durchtritt durch den Zahn und die erneuten Einkoppelverluste in den LWL konnten trotz der leistungsstarken Lichtquellen nicht kompensiert werden. Ähnliche Probleme scheinen auch andere Arbeitsgruppen mit Lichtleitern zu haben, da sie in ihrem Versuchsdesign einen direkten-indirekten Strahlengang verwendeten [31;46]. Näslund et al. [48] berichten dagegen von Photoplethysmographieuntersuchungen an einem starren Röhrchen (ohne Zahn) mit einem indirekten-indirekten Strahlengang und einer konventionellen LED mit 880 nm als Lichtquelle. Über das genaue Versuchsdesign und ob dabei ein Linsensystem verwendet wurde machen sie keine Angaben.

Bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Lichtleiter handelte es sich um eine Sonderanfertigung mit ca. 330 Einzelfasern. Die Stufenindexfaser mit Kern und Mantel aus Glas zeichnete sich durch eine hohe Transmission im verwendeten Spektralbereich von 470 nm (blau) bis 940 nm (infrarot) aus. Mehrere Arbeitsgruppen berichten bei ihren Untersuchungen mit Lichtleitern von einer Beeinflussung der Messsignale durch Bewegungsartefakte [4;12;36;54]. Auch bei den Photoplethysmographieuntersuchungen der vorliegenden Arbeit gab es kleinste Bewegungen des LWL durch Vibrationen der Schlauchpumpe. Durch die plane Bauweise der verwendeten LEDs (SMD-Bauweise) und der individuell hergestellten Vorrichtung zur Ankopplung des LWL wurde eine starre Befestigung des LWL erreicht und Artefakte der nicht optimalen Kopplung zwischen Lichtquelle und LWL weitestgehend ausgeschlossen.

6.1.3 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 1

Für die Untersuchungsgruppen am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 1 wurde das Lasermodul, elastisches und starres Rohr, die Frequenzen F1 und F2, und die 3 Testmedien EK, EK 1:10, EK 1:100 verwendet. Mit dem Lasermodul, mit einer Wellenlänge von 785 nm, wurden die Vorschläge anderer Arbeitsgruppen [18;31;35;63] berücksichtigt, längere Wellenlängen als 600 nm zu verwenden. Niklas [49] empfahl in seiner Dissertation jedoch einen Emitter mit 950 nm (IR). Bewusst wurde in der vorliegenden Arbeit eine Wellenlänge im sichtbaren Bereich gewählt, da das Lasermodul mit einer Leistung von 25 mW ein Produkt der Laserklasse 3B ist mit einer möglichen Gefahr für Auge und Haut. In der einschlägigen Literatur konnte keine Studie gefunden werden, die über Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahn in Verbindung mit Laserlichtquellen berichtet.

Das Zahnmodell mit einem Blutfluss in pulpaaxialer Richtung und der Möglichkeit zur Variation zwischen zwei verschiedenen "Rohren" eignete sich sehr gut, um *in vitro* Transmissionsmessungen am Zahn bei elastischer und starrer Pulpa zu simulieren. Bei den Messungen wurde die Zahnkrone in vestibulo-oraler Richtung durchstrahlt die auch für eine etwaige *in vivo* Anwendung am praktikabelsten zu sein scheint. Der mögliche Einfluss der Zahndicke auf die Transmission scheint eher eine untergeordnete Rolle zu spielen [28].

Für die Untersuchungen mit der Versuchs-ID 1a wurde ein elastischer Silikonschlauch (Außendurchmesser: 2 mm) durch das pulpaaxiale Bohrloch (Durchmesser: 2,5 mm) geführt. Das Bohrloch des Zahnmodells erlaubte dem elastischen Rohr ein gewisses Spiel zur Volumenausdehnung. Dieses Versuchsdesign entspricht dem physiologischen Verhalten von Blutgefäßen im menschlichen Körper, die sich in der Systole ausdehnen und mittels PPG untersucht werden können. In der vorliegenden Arbeit konnten damit zuverlässig Messergebnisse erhalten werden.

Nach den Erkenntnissen aus den Untersuchungen mit dem elastischen Rohr war es notwendig, den Versuchsaufbau der Situation in der Zahnpulpa anzunähern. Durch die starre Ummantelung der Pulpa mit den Zahnhartsubstanzen ist ihre Ausdehnungsfähigkeit stark eingeschränkt. Mittels einem starren Rohr aus Teflon (Außendurchmesser: 1,8 mm), der durch das Bohrloch geführt wurde, konnte eine Volumenausdehnung des Rohres verhindert werden (Versuchs-ID 1b). Der Innendurchmesser lag bei beiden Schläuchen bei 1 mm. Die Arbeitsgruppe um Diaz-Arnold et al. [14] leiteten bei ihren *in vitro* Untersuchungen das Blut über eine okklusale Trepanation direkt in das leere Pulpenkavum. Bewusst wurde in der vorliegenden Studie auf diese Methode verzichtet, da durch den direkten Kontakt zwischen Blut und Dentin zu befürchten war, dass das Blut in die feinen Dentintubuli gelangen, von dort nicht mehr entfernt werden und somit Einfluss auf die Messungen haben könnte. Ein Nachteil beider Untersuchungsgruppen (Versuchs-ID 1a + 1b) war, dass der Blutverlauf in der

Pulpa mit einem Rohr simuliert wurde. Eine anatomisch korrekte Pulpa besteht unter anderem aus einer Vielzahl kleinerer Blutgefäße und Kapillaren. Welchen Einfluss die optischen Eigenschaften der Schläuche auf die Messergebnisse hatten, war nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Die verwendete Schlauchpumpe mit den Frequenzen F1 (ca. 180 Schläge/min) und F2 (ca. 300 Schläge/min) ermöglichte es, einen pulsierenden Blutfluss zu simulieren. Bei einem gesunden, erwachsenen Menschen in Ruhe beträgt die Herzfrequenz etwa 60-80 Schläge/Minute, bei sportlicher Betätigung sind entsprechend höhere Werte bis zu 200 Schläge/Minute physiologisch [29]. Die Frequenz F2 ist daher als unrealistisch einzuordnen während F1 durchaus physiologischen Werten entspricht. Entsprechend der Dissertation Niklas [49] wurde die Schlauchpumpe nur auf die Frequenzen F1 und F2 eingestellt. Diaz-Arnold et al. [14] verwendeten zur Simulation des pulpalen Blutflusses eine Infusionspumpe, die einen konstanten und nicht wie in der vorliegenden Arbeit pulsierenden Fluss erzeugte. Damit können sowohl der Blutfluss des pulpalen Kapillarsystems, als auch die in der Pulpa herrschenden geringen Blutflussraten simuliert werden. Zum Nachweis einer durchbluteten Pulpa mittels PPG sind aber Transmissionsänderungen essentiell, die wie in der vorliegenden Arbeit nur durch einen pulsierenden Blutfluss verursacht werden können. Gründe, warum sie ihren konstanten Fluss nicht durch eine mechanische Apparatur in einen pulsierenden umwandeln, geben sie nicht an.

Die Testmedien EK, EK 1:10 und EK 1:100 wurden nach der von Niklas [49] empfohlenen Verdünnungsreihe hergestellt. Mit ungefähr $5,61 \cdot 10^6$ Erythrozyten/ μl entspricht das Testmedium EK dem physiologischen Wert eines Mannes. EK 1:10 und EK 1:100 haben dagegen einen eher unrealistischen Erythrozytengehalt, so dass sie in den folgenden Untersuchungen keine Berücksichtigung mehr fanden.

6.1.4 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 2

Ziel der Untersuchungen mit der Versuchs-ID 2 war es, eine Wellenlänge zu ermitteln, bei welcher das Licht am stärksten durch das pulsierende Blut moduliert wird und sich entsprechend für PPG-Untersuchungen am Zahn eignen könnte. Zum einen musste die Wellenlänge in der Lage sein, die Zahnhartsubstanzen gut durchdringen zu können und zum anderen durch das pulsierende Blut gut moduliert zu werden. In der Literatur herrscht lediglich darüber Einigkeit, dass Wellenlängen im UV-Bereich und im IR-Bereich ($>2500 \text{ nm}$) für Photoplethysmographieuntersuchungen ungeeignet sind [5;18;28;63]. Entsprechend wurde das LED-Lichtmodul mit 5 LEDs unterschiedlicher Wellenlänge von 470 nm (blau) bis 940 nm (IR) bestückt. Aufgrund der hohen Transmission der

Zahnhartsubstanzen wurde die Wellenlänge von 1300 nm mehrfach vorgeschlagen [28;35]. Für 1300 nm sind jedoch spezielle Emittter und Detektoren nötig, so dass diese Wellenlänge im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht untersucht werden konnte. Da die Lichtstärke der LEDs auf jeden Fall geringer war als die des Lasermoduls, wurden die weiteren Parameter so gewählt, dass nach den Erkenntnissen aus den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 1 die größtmöglichen Werte für ΔU zu erwarten waren. Mit dem elastischen Rohr, Frequenz F1 und Testmedium EK konnte bei allen Wellenlängen ein PPG-Signal erhalten werden.

Besonderen Wert musste auf eine konstante Lichtstärke der LEDs gelegt werden. Aufgrund der bauartbedingten Einbettung der LEDs in elastisches Silikon waren sie kompressionsempfindlich, was bei der Ankopplung des Lichtleiters berücksichtigt werden musste. Zu starker Druck konnte sich auf die Lichtleistung auswirken oder die LED komplett zerstören. Durch die Ankopplung des Lichtleiters mittels Spannzangen konnten Kompressionen auf die LED verhindert werden. Im Dauerbetrieb (> 2 min) zeigte das modifizierte Power Demo Board eine Abnahme der Lichtstärke bei allen LEDs, da es nicht für den Dauerbetrieb entwickelt wurde. Dies hing vor allem mit den Vorwiderständen der LEDs zusammen, die sich erhitzen und der elektrische Widerstand dadurch zunahm. Durch einen eingebauten Lüfter und Messungen mit kurzer Dauer (10 Sek.) konnten Lichtstärkeschwankungen des LED-Lichtmoduls verhindert werden. Für etwaige Messungen im Dauerbetrieb wäre eine Neuankopplung mit neuer Platine und entsprechenden temperaturunabhängigen Widerständen nötig.

Um die ΔU Werte der einzelnen Wellenlängen miteinander vergleichen zu können war es notwendig, die Lichtstärke der LEDs so einzustellen, dass bei allen Untersuchungen ein gleicher DC-Wert vorlag. Bauartbedingt war die Lichtstärke der einzelnen LEDs unterschiedlich und die Photodiode lieferte entsprechend ihres Empfindlichkeitsspektrums (Abb. 29) bei den verschiedenen Wellenlängen einen unterschiedlichen elektrischen Strom. Außerdem absorbiert Blut entsprechend seinem Absorptionsspektrum Licht verschiedener Wellenlängen unterschiedlich stark [56]. Wichtig war dabei, den DC-Wert bei durchblutetem Zahnmodell zu bestimmen, da der DC-Wert von der durchstrahlten Materie und dem relativen Blutvolumen im untersuchten Bereich abhängig ist [5]. Die LED mit 470 nm (blau) lieferte bei maximaler Leistung den niedrigsten DC-Wert von 3,9 mV, auf den dann alle LEDs bei den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 2a eingestellt wurden. Dies erklärt sich zum einen durch die hohe Absorption von Blut [31;56] und den Zahnhartsubstanzen [31;63] bei Wellenlängen unterhalb von 600 nm und zum anderen durch die schwache Empfindlichkeit der verwendeten Photodiode im blauen Wellenlängenbereich (Abb. 29). Bei den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 2b wurden nur die beiden Wellenlängen 625 nm (rot) und 940 nm (IR) unterschieden und die LED mit 625 nm lieferte bei maximaler Leistung den niedrigeren DC-Wert von 41,0 mV.

Erwartungsgemäß blieb bei allen Untersuchungsgruppen der DC-Wert bei eingeschalteter Schlauchpumpe konstant.

Abb. 29:

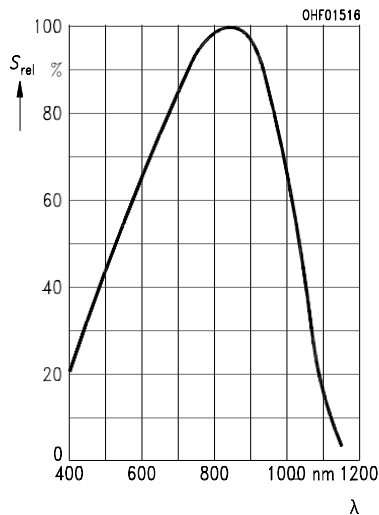


Abb. 29: Relative spektrale Empfindlichkeit der Silizium-Photodiode (SFH 229; Siemens, Deutschland)
x-Achse: Wellenlänge λ in nm, y-Achse: relative spektrale Empfindlichkeit in % (Quelle: Datenblatt SFH 229 [1])

6.1.5 Methode der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Gingivamodell mit der Versuchs-ID 3 und 4

Mit dem Gingivamodell sollte nach den erfolgreichen Untersuchungen mit dem Zahnmodell eine weitere Annäherung an das anatomische Vorbild erreicht werden. Für eine spätere *in vivo* Anwendung ist die räumliche Nähe in der Zahnfleischregion von Gingiva, LWL und Detektor besonders zu beachten, da mehrfach von einer Kontamination des Messsignals durch die durchbluteten parodontalen Gewebe berichtet wurde [4;26;47].

Für die pulpare Durchblutung wurde der Zahn des Gingivamodells entsprechend des Zahnmodells präpariert. Um mögliche Turbulenzen im Blutkreislauf zu reduzieren wurde bewusst auf einen physiologischen Blutverlauf verzichtet und statt dessen ein pulpaaxialer, laminarer Blutverlauf verwendet. Bei der Simulation des gingivalen Blutflusses wurde beachtet, dass er möglichst zirkulär um den Zahn verläuft, wie es einer physiologischen Gingiva entspricht. Da anzunehmen war, dass der Einfluss der gingivalen Durchblutung im Modell eher gering ist, wurde der gingivale Blutfluss durch Wachsdrähte mit einem Durchmesser von 3 mm deutlich größer gewählt als der des physiologischen Vorbilds ($0,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ [38]). Eine zu klein dimensionierte gingivale Durchblutung wäre im PPG-Signal nicht nachweisbar.

In vivo liegen die durchbluteten parodontalen Gewebe in direktem Kontakt zu den Zahnhartsubstanzen. Damit der Zahn direkt von Blut umspült werden und auf ein weiteres Schlauchsystem für den gingivalen Blutverlauf verzichtet werden konnte, kam das lost-wax-Verfahren zum Einsatz. Das verwendete Kaltpolymerisat (Palapress vario) eignete sich für die sichere Fixierung des Zahnes, legte sich aufgrund der guten Fließeigenschaft an den Zahnhals an und dichtete so den gingivalen Blutverlauf nach zervikal ab. Entsprechend dem anatomischen Vorbild musste der koronale Kunststoffüberstand so reduziert werden, dass LWL und Detektor möglichst nahe an den gingivalen Blutverlauf heran kamen. Durch die Farblosigkeit des Kaltpolymerisats konnte eine Wechselwirkung mit dem roten Licht des LED-Lichtmoduls ausgeschlossen werden. Jedoch bestand die Gefahr, dass durch das Umgebungslicht verursachte Störsignale die Messungen beeinflussen könnten. Aus diesem Grund wurde das Klammerdesign so gewählt, dass zum einen das komplette Gingivamodell in die nahezu lichtundurchlässige Klammer integriert werden konnte und sich zum anderen LWL und Detektor bei allen Messungen an der gleichen Stelle am Zahn befanden (Abb. 19B). Ähnliche Haltevorrichtungen wurden zwar von anderen Arbeitsgruppen beschrieben [14;31;46], jedoch scheint bei unserer Apparatur die enorme Größe und individuelle Anpassung an einen einzigen Zahn für spätere *in vivo* Anwendungen problematisch.

Goho [23] verwendete in seinem *in vivo* Versuch eine modifizierte Ohrsonde, die zwar verhältnismäßig voluminös war, aber durch die Klemmvorrichtung an verschiedenen Zähnen angebracht werden konnte. Für die Anwendung am Patienten scheint die Vorrichtung von Noblett et al. [50] durchaus geeignet zu sein, da sie die Sende- und Empfangsdiode auf eine modifizierte Kofferdamklammer aufbrachten.

Die für die Abschirmung des Gingivasignals verwendete selbstklebende Alufolie war für Licht mit $\lambda = 625 \text{ nm}$ undurchlässig und eignete sich zur Abschirmung des Gingivakreislaufs. Sie ließ sich passgenau zuschneiden und auf die Sockeloberfläche adaptieren. Durch die geringe Dicke konnte das Gingivamodell auch mit Abschirmung in die Klammer eingebracht werden. Mehrfach wird in der Literatur auch die Applikation von Kofferdam zur Abschirmung beschrieben [22;26;46].

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Diskussion der Ergebnisse der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 1

Bei den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 1 korrespondierte bei allen Messungen mit regelgerechtem PPG-Signal die Anzahl der Amplituden pro Sekunde mit den beiden Pulsfrequenzen

der Schlauchpumpe. Zusätzlich wurde vor jeder neuen Untersuchung eine Kontrolle mit einem Druckmesssensor durchgeführt, der zur Pulsfrequenz synchrone Druckamplituden registrierte. Dies zeigt, dass die am Zahnmodell detektierten Signale nicht von anderen Quellen als dem pulsierenden Blut herrühren können.

Für die Testmedien (EK, EK 1:10, EK 1:100) konnte mit zunehmender Verdünnung eine signifikante Abnahme von ΔU beobachtet werden. Daraus ergibt sich, dass die Größe von ΔU signifikant von der Menge an Erythrozyten im Messfenster abhängig ist. Untersuchungen von Niklas [49] mit destilliertem Wasser ohne Erythrozyten lieferten entsprechend nur Rauschen und keinen Wert für ΔU . Für das Testmedium EK ergab sich bei elastischem Rohr ein ΔU von 5,3 V bei F1 und 2,3 V bei F2. Bemerkenswert ist, dass auch für das starre Rohr Werte für ΔU ermittelt werden konnten (2,2 V bei F1 und 1,6 V bei F2). Dieses Ergebnis stimmt mit den Untersuchungen von Näslund et al. [48] überein, die ebenfalls mit einem pulsierenden Blutkreislauf und starrem Rohr, PPG-Signale erhalten konnten, allerdings mit einer LED bei 880 nm. Die Entstehung eines PPG-Signals in einem starren Rohr ist nicht durch die Zunahme der optischen Dichte in Folge einer Volumenausdehnung des Rohres zu erklären. Zusätzlich handelt es sich bei Blut um eine nahezu nicht komprimierbare Flüssigkeit [30]. Auch eine mögliche Signalmodulation durch Bewegungen des blutführenden Rohres innerhalb des Zahnmodells konnte durch die angebrachte Halteklammer und das massive Stativ ausgeschlossen werden. Möglicherweise ist eine Orientierung der Erythrozyten im starren Rohr aufgrund der sich ständig ändernden Strömung für die Entstehung des PPG-Signals verantwortlich. Dieses Phänomen wurde bereits in einigen Publikationen erwähnt [5;13;48]. Auch eine elastische Deformation der Erythrozyten, wie sie beispielsweise beim Durchtritt der Erythrozyten durch feinste Kapillaren auftritt [40], könnte Einfluss auf die Lichtmodulation haben. Die Erklärung für dieses Phänomen bedarf weiterer Untersuchungen auch in Hinblick darauf, dass sich die Gesamtmenge an Hämoglobin sowohl bei der Orientierung als auch der elastischen Deformation im Messfenster nicht verändert.

Die signifikante Abnahme von ΔU aller entsprechender Untersuchungsgruppen von elastisch zu starr zeigt, dass die Ausdehnung des elastischen Rohres und die damit verbundene Zunahme der optischen Dichte des Testmediums einen bedeutenden Teil zum PPG-Signal beiträgt. Wird dieser Mechanismus durch das starre Rohr verhindert, wird ΔU signifikant kleiner und einer der oben genannten Mechanismen könnte für die Signalmodulation verantwortlich sein.

Nach statistischer Analyse ergab sich für alle 3 Testmedien (Ausnahme: EK 1:100, F2, starr), dass ΔU bei F1 (3 Hz) signifikant höher war als bei F2 (5 Hz). Die Ergebnisse für das elastische Rohr stimmen mit denen von Niklas [49] überein, der in seiner Arbeit ähnliche Untersuchungen durchführte. Er begründete dieses Verhalten "mit der Möglichkeit, dass sich der Silikonschlauch während des Pumpvorgangs elastisch verformt, so dass er bei F1, wegen der niedrigen Pumpfrequenz, mehr Zeit

hat sich zurückzustellen" [49]. Beim starren Rohr lässt sich das Ergebnis damit jedoch nicht erklären, da eine elastische Deformation des Rohres ausgeschlossen werden kann. Auch hier könnte die Orientierung oder elastische Deformation der Erythrozyten, die bei F1 anders ablaufen könnte als bei F2, für das signifikant höhere ΔU bei F1 verantwortlich sein.

Für 4 Untersuchungsgruppen (Rohr elastisch: EK 1:100 bei F2; Rohr starr: EK 1:100 bei F1 sowie EK 1:10 und EK 1:100 bei F2) war es nicht möglich, ein ΔU zu ermitteln, da kein Pulssignal detektiert werden konnte (Abb. 24). Lediglich ein schwaches und nicht mit den Pumpfrequenzen F1 und F2 korrespondierendes Rauschen konnte detektiert werden (Abb. 30). Eine Verdünnungsreihe mit zu stark verdünnten Testmedien scheidet als mögliche Erklärung dafür aus. Die Testmedien wurden nach der von Niklas [49] empfohlenen Verdünnungsreihe hergestellt und er konnte bei seinen Untersuchungen für alle 3 Testmedien und elastischem Schlauch ein PPG-Signal erhalten. Nach den Erkenntnissen aus den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 2 scheint auch die bauartbedingte Wellenlänge des Lasermoduls mit 785 nm (rot) durchaus geeignet. Möglicherweise sind die zu Niklas [49] unterschiedlichen Ergebnisse durch die vorgenommenen Veränderungen in der Versuchsanordnung zu erklären. Unter anderem wurde in der vorliegenden Arbeit ein indirekter-direkter Strahlengang, ein Einkanalphotoplethysmograph und eine andere Apparatur zur Signalauswertung verwendet. Bei starrem Rohr leistet zusätzlich der Wegfall der Signalmodulation durch die fehlende Volumenausdehnung des Rohres einen Beitrag zur Minimierung des PPG-Signals.

Abb. 30:

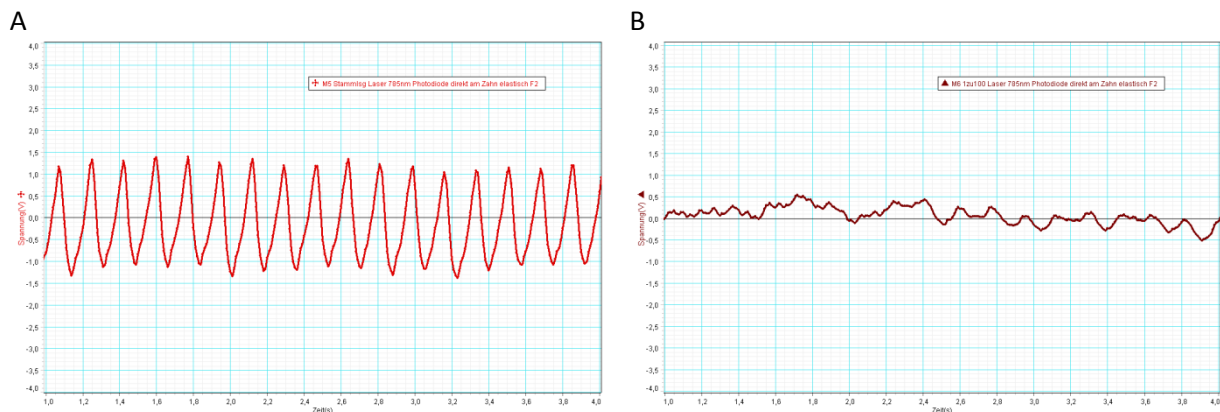


Abb. 30: Ausschnitt (3 Sekunden) zweier exemplarischer Messkurven
x-Achse (Zeit in Sekunden): 1,0 s-4,0 s; y-Achse (Spannung in Volt): -4,0 V-(+4,0 V)
A: Regelgerechtes PPG-Signal für EK, "Rohr elastisch" bei F2 (ca. 5 Amplituden/Sekunde)
B: Rauschen und fehlendes PPG-Signal für EK 1:100, "Rohr elastisch" bei F2

6.2.2 Diskussion der Ergebnisse der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 2

Bei den Photoplethysmographieuntersuchungen am Zahnmodell mit der Versuchs-ID 2 korrespondierte bei allen Messungen die Anzahl der Amplituden pro Sekunde mit der Pulsfrequenz F1. Das Ergebnis zeigt, dass PPG-Untersuchungen grundsätzlich mit den verwendeten Wellenlängen 470 nm (blau), 528 nm (grün), 590 nm (gelb), 625 nm (rot) und 940 nm (IR) möglich sind, da für alle Wellenlängen ein ΔU bestimmt werden konnte. Dies entspricht den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, bei denen die verwendeten Wellenlängen vom sichtbaren Spektrum bis in den Infrarotbereich hinein reichen. Erfolgreiche Untersuchungen wurden *in vivo* bei 525 nm (grün) [46], 565 nm (gelb) und 695 nm (rot) [31] sowie *in vitro* bei 576 nm (gelb) [14] und 950 nm (IR) [49] durchgeführt.

Eindrucksvollerweise war ΔU bei den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 2a bei der Wellenlänge 625 nm (rot) signifikant größer als bei allen anderen Wellenlängen. Dabei ist zu beachten, dass die Werte für ΔU der einzelnen Wellenlängen direkt miteinander verglichen werden können, da die Lichtstärke der einzelnen LEDs so reguliert wurde, dass jeweils ein DC-Wert von 3,9 mV vorlag. Dies bedeutet, dass zwar durchaus mit allen verwendeten Wellenlängen PPG-Untersuchungen am Zahn durchgeführt werden können, die rote Wellenlänge jedoch, bei gleicher vorliegender Lichtstärke, das größte ΔU liefert. Weiter zeigte sich mit der roten LED ein sehr gutes Signal-Rausch-Verhältnis, was sich in einer reduzierten Empfindlichkeit gegenüber Störsignalen äußert und mit der Signalqualität einhergeht. Trotz einem signifikant geringeren ΔU lieferte auch die blaue LED (470 nm) vielversprechende Ergebnisse. Das Signal-Rausch-Verhältnis war gut und die Werte für ΔU waren signifikant größer als für 528 nm (grün), 590 nm (gelb) und 940 nm (IR). Dies entspricht dem Vorschlag, kurze Wellenlängen als 600 nm zu verwenden [31]. Von den oben genannten Arbeitsgruppen untersuchten lediglich Ikawa et al. [31] zwei verschiedene Wellenlängen im selben Versuchsaufbau miteinander. Entgegen der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ermittelten sie gute PPG-Signale bei 565 nm (gelb) wohingegen die Signale bei 695 nm (rot) wesentlich schlechter, und nur durch Synchronisation mit dem EKG und anschließender Mittelung auswertbar waren. Ihre Untersuchungen führten sie *in vivo* durch und verwendeten als Detektor einen CdS-CdSe-Photowiderstand mit der höchsten Empfindlichkeit bei 590 nm (gelb), statt einer Silizium-Photodiode wie in der vorliegenden Arbeit. Ferner machten sie keine Angaben über eine etwaige Kalibrierung der Lichtstärke der LEDs wie es in der vorliegenden Arbeit durch den DC-Wert geschehen ist. Möglicherweise ist die fehlende Kalibrierung in Kombination mit der hohen Empfindlichkeit des Photowiderstands im gelben Bereich der Grund für die besseren PPG-Signale bei 565 nm (gelb).

Bei den Untersuchungen mit der Versuchs-ID 2b wurde beim Vergleich zwischen 625 nm (rot) und 940 nm (IR) das gute Ergebnis für die rote Wellenlänge nochmals bestätigt. Beim direkten Vergleich zwischen den Untersuchungsgruppen mit der Versuchs-ID 2b (DC-Wert 41 mV) und 2a (DC-Wert 3,9 mV) ergab sich eine Abnahme von ΔU um etwa eine Zehnerpotenz. Dies gibt einen Hinweis auf die direkte Abhängigkeit des ΔU von der eingestrahlten Lichtstärke.

6.2.3 Diskussion der Ergebnisse der Photoplethysmographieuntersuchungen *in vitro* am Gingivamodell mit der Versuchs-ID 3 und 4

Bei den Photoplethysmographieuntersuchungen am Gingivamodell mit der Versuchs-ID 3 und 4 korrespondierte bei allen Messungen die Anzahl der Amplituden pro Sekunde mit der Pulsfrequenz von 2 Hz. Bei der alleinigen Durchblutung des Zahnes ("Zahn durchblutet, ohne Alufolie", Abb. 26) ergab sich entsprechend der Untersuchungen am Zahnmodell (Kapitel 4.2) ein deutlich messbares ΔU . Nach Aufbringen der Abschirmung aus Alufolie nahm ΔU erstaunlicherweise signifikant ab, obwohl Lichtleiter und Detektor an der Zahnkrone lokalisiert waren. Daraus ergibt sich, dass nicht nur in der direkt von Licht durchstrahlten Zahnkrone sondern auch in der Zahnwurzel ein PPG-Signal entstehen muss, das vom Detektor aufgenommen wird und einen entscheidenden Beitrag für ΔU leistet. Durch die aufgebrachte Abschirmung konnte der Detektor das Signal der Zahnwurzel möglicherweise schlechter detektieren, was in einem signifikant kleineren ΔU resultierte. Die starke Lichtstreuung des Zahnes und die Fähigkeit der Zahnhartsubstanzen, als Lichtleiter zu wirken [32;47] haben zur Folge, dass eine Untersuchung des Zahnes mit Licht nicht lokalisiert möglich ist, sondern dabei stets der gesamte Zahn, untersucht wird.

Sobald beide Kreisläufe gemeinsam durchblutet wurden konnte der zeitlich etwas versetzte Puls der durchbluteten Gingiva nicht mehr separat detektiert werden. Stattdessen nahm ΔU im Vergleich zur alleinigen Durchblutung des Zahnes sowohl mit als auch ohne Abschirmung signifikant zu. Bei den Untersuchungen "Zahn & Gingiva durchblutet, ohne Alufolie" (Abb. 26) wurde durch die signifikante Zunahme von ΔU im Vergleich zu "Zahn durchblutet, ohne Alufolie" (Abb. 26), die Kontamination des PPG-Signals durch die durchblutete Gingiva deutlich. Die optischen Eigenschaften des Zahnes streuten das eingestrahlte Licht bis in die angrenzende Gingiva, so dass auch deren Durchblutung im ΔU des Zahnes mit dargestellt wurde. Dieses Ergebnis stimmt mit den *in vivo* Vitalitätsuntersuchungen zahlreicher Arbeitsgruppen überein, die sowohl bei der PPG [46] als auch bei der LDF [4;26;67] bereits von dieser Problematik berichteten.

Die in den folgenden Untersuchungen aufgebrachte Abschirmung aus Alufolie sollte diesem Problem entgegen wirken und die Beeinflussung des Messsignals durch die Gingiva verhindern oder

zumindest reduzieren. Tatsächlich wurde durch die Abschirmung ein deutlich kleineres ΔU erhalten, was auf den ersten Blick ein vielversprechendes Ergebnis darstellte. Der Vergleich zwischen "Zahn durchblutet, mit Alufolie" und "Zahn & Gingiva durchblutet, mit Alufolie" (Abb. 26) zeigte jedoch eine signifikante Zunahme von ΔU . Daraus lässt sich schließen, dass durch die Abschirmung hauptsächlich das Zahnsignal durch Verlust des Wurzelsignals verringert wurde, wohingegen die Kontamination durch die Gingiva weiterhin bestehen blieb. Nach diesem Ergebnis scheint die Verwendung einer Abschirmung eher ungeeignet und auch Nair et al. [47] berichteten, dass eine komplette Elimination der Streustrahlung aus den parodontalen Geweben durch Abschirmungen nicht möglich ist. Auch Miwa et al. [46] stellten die Notwendigkeit einer Abschirmung in Frage als sie in ihren *in vivo* Untersuchungen zur PPG schwarzen Kofferdam als Abschirmung verwendeten und dabei keine signifikanten Veränderungen in der Signalintensität ermitteln konnten.

Ein gänzlich anderes Versuchsdesign wurde von Vongsavan und Matthews [67] im Rahmen von *in vivo* LDF-Untersuchungen an Schweinezähnen vorgestellt. Anstatt eine Abschirmung auf die Gingiva aufzubringen, überzogen sie die komplette Zahnkrone mit Alufolie und reduzierten so die Streustrahlung nach außen. Dadurch erreichten sie eine signifikante Verstärkung des Zahnsignals während das Signal der Gingiva nahezu konstant blieb. Um die etwaige Eignung dieses Versuchsdesigns für die Photoplethysmographie zu klären, sind weitere Untersuchungen dazu notwendig.

6.2.4 Diskussion der Ergebnisse der Transmissionsmessungen für Dentinscheiben

Die Transmissionsmessungen für Dentinscheiben zeigten vor allem im Grenzbereich des FTIR-Spektrometers ($0,8\ \mu\text{m}$) ein nicht optimales Signal-Rauschverhältnis, so dass es nötig war, die Wellenlängen-Transmissions-Graphen mit der Funktion "Adjacent Averaging" zu glätten. Ein wichtiges Ziel dieser Untersuchungen war es, Dentinscheiben in einem möglichst großen Spektralbereich zu vermessen und dabei einen Bereich zu ermitteln, in dem das Dentin eine zuverlässig hohe Transmission aufweist und der sich als optisches Fenster für PPG-Untersuchungen am Zahn eignen könnte. Bisher hatten lediglich Strawn et al. [63] Dentinscheiben mit Dicken von $750\ \mu\text{m}$ im Spektralbereich zwischen $0,2\ \mu\text{m}$ und $2,5\ \mu\text{m}$ untersucht und ermittelten dabei einen Bereich erhöhter Transmission zwischen $0,6\ \mu\text{m}$ und $1,2\ \mu\text{m}$. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ergaben einen Bereich erhöhter Transmission zwischen $0,9\ \mu\text{m}$ und $1,33\ \mu\text{m}$ und konnten die Erkenntnisse von Strawn et al. weitestgehend bestätigen. Weiterführende spektroskopische Untersuchungen mit Blut durch Hirmer et al. [28] ergaben für den Bereich zwischen $0,65\ \mu\text{m}$ und $1,4\ \mu\text{m}$ Transmissionswerte die stark von der Blutflussrate abhängig waren. Diese Eigenschaft könnte

sich für Durchblutungsmessungen am Zahn positiv auswirken, da der Puls einen ständigen Wechsel der Fließgeschwindigkeit in der Zahnpulpa verursacht und mit Hilfe der Transmission detektiert werden kann. Mit den Daten der vorliegenden Arbeit und den Ergebnissen ihrer Blutuntersuchungen ermittelten Hirmer et al. [28] das beste Verhältnis zwischen Dentintransmission und Blutabsorption zwischen 0,85 μm und 1,38 μm . Für zukünftige PPG-Untersuchungen am Zahn sollte gerade der Wellenlängenbereich unterhalb von 1,38 μm , wie in den Kapiteln 4.2 und 4.4 der vorliegenden Arbeit und zahlreichen Publikationen [14;31;46] bereits geschehen, besonders berücksichtigt werden.

Erstaunlicherweise lagen selbst bei einer dünnen Scheibe mit 200 μm Dicke die Transmissionswerte unter 1 % des eingestrahlten Lichts, mit steigender Dentindicke sogar noch deutlich darunter. Dies ist vor allem im Hinblick auf weiterführende Untersuchungen mit ganzen Zähnen oder einer klinischen PPG-Anwendung am Zahn als kritisch zu betrachten, denn neben einer geeigneten Wellenlänge scheint auch die Abschwächung der Lichtleistung durch die Zahnhartsubstanzen eine entscheidende Rolle zu spielen. Ikawa et al. [31] verwendeten beispielsweise eine konventionelle Wolframlampe für ihre Spektroskopieuntersuchungen an kompletten Zähnen und erhielten dabei kaum messbare Transmissionswerte, während sie für oxygeniertes Blut deutliche Transmissionswerte erhielten. Das in der vorliegenden Arbeit verwendete FTIR-Spektrometer Vertex 80v war aufgrund seiner Hochleistungslichtquelle auch in der Lage, komplette Zähne zu transmittieren [28].

Der mögliche Einfluss einer steigenden Zahl von Dentinkanälchen konnte mit der besonderen Betrachtung von Zahn 003 dargestellt werden. Obwohl sich der Trend abzeichnete, dass bei einer pulpanahen Scheibe eine geringere Transmission vorlag als bei einer pulpafernen ist diese Aussage kritisch zu betrachten, da im Rahmen der vorliegenden Arbeit lediglich ein Zahn daraufhin untersucht werden konnte. Die Arbeitsgruppe um Strawn et al. [63] konnte dagegen keinen Unterschied zwischen pulpanahen und pulpafernen Dentinscheiben im Transmissionsspektrum erkennen. Zu beachten ist, dass ihre Schnitte parallel zur Kaufläche angefertigt wurden, die der vorliegenden Arbeit von mesial nach distal.

6.3 Ausblick

Weitere Fragen, die nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit waren, bleiben offen und müssen durch weiterführende Untersuchungen geklärt werden. Die mehrfach vorgeschlagene Wellenlänge von 1300 nm und ihre Eignung für PPG-Untersuchungen am humanen Zahn sind zu prüfen. Auch sollte die Richtung des Blutverlaufs sowie die Blutflussrate des Zahnmodells dem physiologischen Vorbild angenähert werden. Dabei bleibt die Frage zu klären ob es überhaupt notwendig ist, den Blutverlauf der Pulpa durch ein Schlauchsystem zu simulieren, oder ob das Blut wie bei den

Untersuchungen von Diaz-Arnold et al. [14] direkt in das leere Pulpenkavum geleitet werden kann. Alternativ könnte das Pulpenkavum der untersuchten Zähne durch eine individuell hergestellte Pulpa ausgefüllt und diese dann möglichst physiologisch durchblutet werden.

Ferner sollte die Wirksamkeit der Gingivaabschirmung, idealerweise durch die Verwendung verschiedener Abschirmmaterialien, weiter untersucht werden.

Abschließend ist zu sagen, dass gerade im Bereich der spektralen Untersuchung von Zahnhartsubstanzen weitere Untersuchungen nötig sind. Besonders der Zahnschmelz ist dabei zu berücksichtigen, da in der Literatur bisher kein Transmissionsspektrum von Schmelz und nur wenige Daten dazu gefunden werden konnten.

7. Zusammenfassung

Gegenstand der vorliegenden *in vitro* Studie ist es, einen Beitrag zur Entwicklung eines Untersuchungsverfahrens zu leisten, das durch Messung der Zahndurchblutung mittels Photoplethysmographie (PPG) dem zahnmedizinischen Behandler eine objektive Möglichkeit der Vitalitätsprüfung von Zähnen zur Verfügung stellt. Dazu wurde ein Versuchsaufbau mit einem Zahnmodell entwickelt und Lichtquellen unterschiedlicher Wellenlängen über einen Lichtwellenleiter integriert. In diesem Aufbau konnte sowohl eine elastische als auch eine starre Pulpa durch ein entsprechendes Rohr simuliert werden, um zu prüfen ob das Verfahren der PPG auch bei einer nicht ausdehnungsfähigen Pulpa (starr), wie sie *in vivo* vorliegt, überhaupt angewendet werden kann und welche Wellenlängen für PPG-Untersuchungen am Zahn am besten geeignet sind. Anschließend wurde zur weiteren Annäherung an das anatomische Vorbild ein Gingivamodell entwickelt und in den Versuchsaufbau integriert und damit der etwaige Einfluss der Gingivadurchblutung auf PPG-Messungen am Zahn untersucht. Um die Eignung des nahen Infrarotbereichs für PPG-Untersuchungen am Zahn zu prüfen wurden humane Dentinscheiben von 200 μm -800 μm Dicke am FTIR-Spektrometer untersucht und Transmissionsmessungen im nahen Infrarotbereich durchgeführt. Die Auswertung der Untersuchungen am Zahnmodell ergab mit dem Lasermodul als Lichtquelle eine signifikante Abnahme der Signalamplitude (ΔU) bei Wechsel von elastischem zu starrem Rohr aber ein dennoch deutlich messbares ΔU für das starre Rohr. Bei den Wellenlängenuntersuchungen konnte für alle Wellenlängen ein ΔU ermittelt werden, so dass PPG-Untersuchungen am Zahnmodell mit den untersuchten Wellenlängen möglich war. Für die Wellenlänge von 625 nm (rot) konnte jedoch ein signifikant größeres ΔU als bei allen anderen Wellenlängen ermittelt werden. Die Untersuchungen am Gingivamodell ergaben eine signifikante Zunahme von ΔU , nachdem neben der Pulpa auch die Gingiva durchblutet wurde. Mit einer Abschirmung der Gingiva durch Alufolie konnte eine signifikante ΔU -Abnahme registriert werden. Für die humanen Dentinscheiben wurde ein Transmissionsspektrum von 0,8 μm bis 3,0 μm mit einem Bereich erhöhter Transmission zwischen 0,9 μm und 1,33 μm aufgezeichnet. Abschließend kann man festhalten, dass die *in vitro* Untersuchungen zur Photoplethysmographie am humanen Zahnmodell vor allem im roten Wellenlängenbereich vielversprechend waren. Auch im Hinblick auf ein späteres *in vivo* Verfahren sind die Untersuchungen als positiv zu werten. Neben einer Signalübertragung durch Lichtleiter konnte trotz einer starren Pulpa und dem Einfluss von Störsignalen aus der durchbluteten Gingiva ein PPG-Signal der Pulpa detektiert werden.

8. Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria	<u>Physikalische Einheiten</u>	
a.u.	willkürliche Einheit (englisch)	cm	Zentimeter
AC	Alternating current, Wechselstrom	g	Gramm
Abb.	Abbildung	Hz	Hertz, phys. Einheit für die Frequenz
CO ₂	Kohlenstoffdioxid	l	Liter
CCD	Charge-coupled Device	mA	Milliampere
DC	Direct current, Gleichstrom	min	Minute
EK	Testmedium: EK unverdünnt	ml	Milliliter
EK 1:10	Testmedium: EK 1:10 verdünnt	mm	Millimeter
EK 1:100	Testmedium: EK 1:100 verdünnt	mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
et al.	und andere (lateinisch)	mW	Milliwatt
F1	Frequenz F1= 3Hz	nm	Nanometer
F2	Frequenz F2= 5Hz	Sek.	Sekunde
Gew. %	Gewichtsprozent	µl	Mikroliter
H ₂	Wasserstoff	µm	Mikrometer
LDF	Laser-Doppler-Blutflussmessung	°C	Grad Celsius
LED	Leuchtdiode		
Lsg.	Lösung		
LSI	Laser-Speckle-Bildgebung		
LWL	Lichtwellenleiter		
NaCl	Natriumchlorid, Kochsalz		
O ₂	Sauerstoff		
PMMA	Polymethylmethacrylat		
PPG	Photoplethysmographie		
PTFE	Polytetrafluorethylen, Teflon		
ΔU	Delta U= Signalamplitude in Volt		
Λ	Wellenlänge (Lambda)		

9. Literaturverzeichnis

- [1] Datenblatt SFH 229. 2013 Jun 27. <http://docs-europe.electrocomponents.com/webdocs/08b2/0900766b808b25c6.pdf>
- [2] Abd-Elmeguid A, Yu DC. Dental pulp neurophysiology: Part 1, Clinical and diagnostic implications. J Can Dent Assoc 2009 Feb;75(1):55-9.
- [3] Abd-Elmeguid A, Yu DC. Dental pulp neurophysiology: Part 2, Current diagnostic tests to assess pulp vitality. J Can Dent Assoc 2009 Mar;75(2):139-43.
- [4] Akpınar KE, Er K, Polat S, Polat NT. Effect of gingiva on laser doppler pulpal blood flow measurements. J Endod 2004 Mar;30(3):138-40.
- [5] Allen J. Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement. Physiol Meas 2007 Mar;28(3):R1-39.
- [6] Alvesalo L, Tammisalo E, Townsend G. Upper central incisor and canine tooth crown size in 47,XXY males. J Dent Res 1991 Jul;70(7):1057-60.
- [7] Avery JK. Structural elements of the young normal human pulp. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1971 Jul;32(1):113-25.
- [8] Basak K, Manjunatha M, Dutta PK. Review of laser speckle-based analysis in medical imaging. Med Biol Eng Comput 2012 Jun;50(6):547-58.
- [9] Bender IB. Pulpal pain diagnosis- a review. J Endod 2000 Mar;26(3):175-9.
- [10] Bhaskar SN, Rappaport HM. Dental vitality tests and pulp status. Journal of the American Dental Association 1973 Feb 1;86(2):409-11.
- [11] Böck, M. Vorlesung Transfusionsmedizin 2012. 2012 Mar 9. www.transfusionsmedizin.uk-wuerzburg.de
- [12] Calil E, Caldeira CL, Gavini G, Lemos EM. Determination of pulp vitality in vivo with pulse oximetry. Int Endod J 2008 Sep;41(9):741-6.
- [13] deTrafford J, Lafferty K. What does photoplethysmography measure? Med Biol Eng Comput 1984 Sep;22(5):479-80.
- [14] Diaz-Arnold AM, Wilcox LR, Arnold MA. Optical detection of pulpal blood. J Endodont 1994 Apr;20(4):164-8.
- [15] Eberlein D. Lichtwellenleitertechnik. 7. Auflage, 2007. Renningen, Expert Verlag. ISBN: 3-8169-2696-7
- [16] Edwall B, Gazelius B, Berg JO, Edwall L, Hellander K, Olgart L. Blood flow changes in the dental pulp of the cat and rat measured simultaneously by laser Doppler flowmetry and local 125I clearance. Acta Physiol Scand 1987 Sep;131(1):81-91.

- [17] Forrester KR, Stewart C, Tulip J, Leonard C, Bray RC. Comparison of laser speckle and laser Doppler perfusion imaging: measurement in human skin and rabbit articular tissue. *Med Biol Eng Comput* 2002 Nov;40(6):687-97.
- [18] Fried D, Glens RE, Featherstone JD, Seka W. Nature of light scattering in dental enamel and dentin at visible and near-infrared wavelengths. *Appl Opt* 1995 Mar 1;34(7):1278-85.
- [19] Fuss Z, Trowbridge H. Assessment of reliability of electrical and thermal pulp testing agents. *J Endod* 1986 Jul;12(7):301-5.
- [20] Gängler P. Lehrbuch der konservierenden Zahnheilkunde.3. Auflage, 1998. ISBN: 3-86-126109-X
- [21] Gängler P. Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie.2. Auflage, 2005. Stuttgart, Deutschland, Georg Thieme Verlag. ISBN: 3-13-593702-X
- [22] Gazelius B, Edwall LO, Edwall L. Non invasive recording of blood flow in human dental pulp. *Endodontics and Dental Traumatology* 1986;2(5):219-21.
- [23] Goho C. Pulse oximetry evaluation of vitality in primary and immature permanent teeth. *Pediatr Dent* 1999 Mar;21(2):125-7.
- [24] Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011;3:711-35.
- [25] Greulich W. Lexikon der Physik, Band 2.1999. Heidelberg, Spektrum Akademischer Verlag. ISBN: 3-86025-292-5
- [26] Hartmann A, Azerad J, Boucher Y. Environmental effects on laser Doppler pulpal blood-flow measurements in man. *Arch Oral Biol* 1996 Apr;41(4):333-9.
- [27] Hellwig E. Einführung in die Zahnerhaltung.5. Auflage, 2009. Köln, Deutschland, Deutscher Ärzte- Verlag. ISBN: 978-3-7691-3371-4
- [28] Hirmer M, Danilov S, Giglberger S, Putzger J, Niklas A, Jaeger A, et al. Spectroscopic study of human teeth and blood from Visible to Terahertz Frequencies for clinical diagnosis of dental pulp vitality. *Journal of Infrared, Millimeter and Terahertz Waves* 2012 Mar 1;33(3):366-75.
- [29] Huppelsberg J, Walter K. Kurzlehrbuch Physiologie.17-25 und 133. 2005. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. ISBN: 3-13-136432-7
- [30] Hüter-Becker A, Dölken M. Biomechanik, Bewegungslehre, Leistungsphysiologie, Trainingslehre.35. 2. Auflage, 2011. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. ISBN: 978-3-13-136862-1
- [31] Ikawa M, Horiuchi H, Ikawa K. Optical characteristics of human extracted teeth and the possible application of photoplethysmography to the human pulp. *Arch Oral Biol* 1994 Oct;39(10):821-7.
- [32] Ikawa M, Vongsavan N, Horiuchi H. Scattering of laser light directed onto the labial surface of extracted human upper central incisors. *J Endod* 1999 Jul;25(7):483-5.

- [33] Jafarzadeh H, Udoye CI, Kinoshita J. The application of tooth temperature measurement in endodontic diagnosis: a review. *J Endod* 2008 Dec;34(12):1435-40.
- [34] Jahns J. *Photonik*. 2009. München, Oldenbourg Verlag. ISBN: 3-486-23425-1
- [35] Jones R, Huynh G, Jones G, Fried D. Near-infrared transillumination at 1310 nm for the imaging of early dental decay. *Opt Express* 2003 Sep 8;11(18):2259-65.
- [36] Karayilmaz H, Kirzioglu Z. Comparison of the reliability of laser Doppler flowmetry, pulse oximetry and electric pulp tester in assessing the pulp vitality of human teeth. *Journal of oral rehabilitation* 2011;38(5):340-7.
- [37] Kiefel V. *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*. 223-243. 2010. Berlin, Springer Verlag. ISBN: 978-3-642-12764-9
- [38] Kim S. Microcirculation of the dental pulp in health and disease. *J Endod* 1985 Nov;11(11):465-71.
- [39] Klingebiel R. Entwicklung eines Modelles zur Untersuchung des Einflusses verschiedener Parameter auf Blutflussmessungen in vitro. *Med. Diss.: Universität Regensburg*; 2008.
- [40] Klinke R, Silbernagl S. *Lehrbuch der Physiologie*. 194. 4. Auflage, 1999. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. ISBN: 3-13-796004-5
- [41] Klinke R, Pape HC, Silbernagl S. *Physiologie*. 223-234. 2010. Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG. ISBN: 9783137960065
- [42] Kretschmer V, Gombotz H. *Transfusionsmedizin- Klinische Hämotherapie*. 65-69. 2008. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. ISBN: 978-3-13-145751-6
- [43] Lehmann KM, Hellwig E. *Zahnärztliche Propädeutik*. 10. Auflage, 2005. München, Deutschland, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag. ISBN: 3-437-05391-4
- [44] Lichtenthaeler C. *Der Eid des Hippokrates*. 118-119. 1984. Köln, Deutscher Ärzte- Verlag GmbH. ISBN: 3-7691-0088-3
- [45] Mendez JD, Zarzoza E. Rapid determination of dry weight in human dental pulp by a colorimetric reaction. *J Endod* 1999 Sep;25(9):596-8.
- [46] Miwa Z, Ikawa M, Iijima H, Saito M, Takagi Y. Pulpal blood flow in vital and nonvital young permanent teeth measured by transmitted-light photoplethysmography: a pilot study. *Pediatr Dent* 2002 Nov;24(6):594-8.
- [47] Nair BG, Amarendhar Reddy K, Gopikrishna Reddy M, Reddy N, Nair BG, Amarendhar Reddy K, et al. A review of laser Doppler flowmetry and pulse oximetry in dental pulp vitality. *JCDR* 2011;5(4):903-5.
- [48] Näslund J, Pettersson J, Lundberg T, Linnarsson D, Lindberg LG. Non- invasive continuous estimation of blood flow changes in human patellar bone. *Med Biol Eng Comput* 2006 Jun 3;44(4):501-9.
- [49] Niklas A. *In vitro Untersuchungen zur Photoplethysmographie an Zähnen und der Eignung von Terahertzstrahlung für die Entwicklung eines Geräts zur Detektion des Blutflusses in der Zahnpulpa*. *Med. Diss.: Universität Regensburg*; 2010.

- [50] Noblett WC, Wilcox LR, Scamman F, Johnson WT, Diaz-Arnold A. Detection of pulpal circulation in vitro by pulse oximetry. *J Endod* 1996 Jan;22(1):1-5.
- [51] Peters DD, Mader CL, Donnelly JC. Evaluation of the effects of carbon dioxide used as a pulpal test. 3. In vivo effect on human enamel. *J Endod* 1986 Jan;12(1):13-20.
- [52] Ramirez-San-Juan JC, Ramos-Garcia R, Guizar-Iturbide I, Martinez-Niconoff G, Choi B. Impact of velocity distribution assumption on simplified laser speckle imaging equation. *Opt Express* 2008 Mar 3;16(5):3197-203.
- [53] Rickoff B, Trowbridge H, Baker J, Fuss Z, Bender IB. Effects of thermal vitality tests on human dental pulp. *J Endod* 1988 Oct;14(10):482-5.
- [54] Roy E, Alliot-Licht B, Dajeau-Trutaud S, Fraysse C, Jean A, Armengol V. Evaluation of the ability of laser Doppler flowmetry for the assessment of pulp vitality in general dental practice. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 2008;106(4):615-20.
- [55] Ruth B. Blood flow determination by the laser speckle method. *Int J Microcirc Clin Exp* 1990 Feb;9(1):21-45.
- [56] Scharl M, Gessler M. *Biochemie und Molekularbiologie des Menschen*. 768-768. 2009. München, Urban und Fischer Verlag. ISBN: 978-3-437-43690-1
- [57] Schmalz G. Pulpadiagnostische Methoden. In: Hahn W(Editor). *Zahnärztliche Diagnostik und Behandlungsplanung*. 1989. p. 77-95.
- [58] Schroeder HE. *Orale Strukturbioologie*. 1992. Georg Thieme Verlag. ISBN: 3-13-540904-X
- [59] Schulz I, Putzger J, Niklas A, Brandt M, Jaeger A. PPG signal acquisition and analysis on in vitro tooth model for dental pulp vitality assessment. 2012; ARC 2012 Submission 16, <http://arc2012.las3.de/>
- [60] Stenvik A, Iversen J, Mjor IA. Tissue pressure and histology of normal and inflamed tooth pulps in macaque monkeys. *Arch Oral Biol* 1972 Nov;17(11):1501-11.
- [61] Stern MD, Lappe DL, Bowen PD, Chimosky JE, Holloway GA, Jr., Keiser HR, et al. Continuous measurement of tissue blood flow by laser-Doppler spectroscopy. *Am J Physiol* 1977 Apr;232(4):H441-H448.
- [62] Stoianovici C, Wilder-Smith P, Choi B. Assessment of pulpal vitality using laser speckle imaging. *Lasers Surg Med* 2011 Sep;43(8):833-7.
- [63] Strawn SE, White JM, Marshall GW, Gee L, Goodis HE, Marshall SJ. Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions- short term. *J Dent* 1996 Nov;24(6):417-23.
- [64] Stroud JL, English J, Buschang PH. Enamel thickness of the posterior dentition: its implications for nonextraction treatment. *Angle Orthod* 1998 Apr;68(2):141-6.
- [65] Thomas HF. The dentin-predentin complex and its permeability: anatomical overview. *J Dent Res* 1985 Apr;64:607-12.

- [66] Tonder KJ. Blood flow and vascular pressure in the dental pulp. Summary. Acta Odontol Scand 1980;38(3):135-44.
- [67] Vongsavan N, Matthews B. Experiments in pigs on the sources of laser Doppler blood-flow signals recorded from teeth. Arch Oral Biol 1996 Jan;41(1):97-103.
- [68] Weinert A. Kunststofflichtwellenleiter.1998. München, Publicis MCD Verlag. ISBN: 3-89578-059-6
- [69] Wolf HF. Farbatlanten der Zahnmedizin, Band 1 Parodontologie.2004. Georg Thieme Verlag. ISBN: 3-13-655603-8
- [70] Yu C, Abbott PV. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. Aust Dent J 2007 Mar;52(1 Suppl):S4-16.